

**Perfusionsverhalten, Funktion und
Durchströmungsverteilung
maschinell perfundierter Nieren**

Max Raab

1976

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität München
(Direktor Prof.Dr.G.Heberer)

Perfusionsverhalten, Funktion und Durchströmungsverteilung
maschinell perfundierter Nieren

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Max Raab
aus München
Mai 1976



Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.Dr.H.Pichlmaier

Mitberichterstatter: Prof.Dr.G.Heberer

Dekan: Prof.Dr.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 12.10.1976

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung	Seite 1
II. Material und Methodik	
Nephrektomie	7
Perfusionssystem	8
Maschinelle Perfusion	10
Transplantation	11
Bestimmung der Sofortfunktion	12
Untersuchung der Durchströmungsverteilung	14
III. Ergebnisse	
1. Perfusionsdaten	
Perfusionsdruck, renaler Widerstand	17
Enzymausschüttung	17
pH, pO_2	17
Temperatur, Viskosität	18
Glukose, Eiweiß, Na^+ , K^+ , Osmolalität	18
2. Nierenfunktion nach Transplantation	18
3. Ergebnisse der Gefäßdarstellung	19
IV. Diskussion	
A. Perfusionsverhalten und Funktion bei nicht- pulsierender, hypothermer Perfusion	21
1. Wahl des optimalen Perfusionsdruckes	23
a. Endothelschädigung	24
b. Ödementstehung	27
c. Perfusatviskosität	27
d. Perfusattemperatur	28
2. Vitalitätsparameter	
a. Enzymausschüttung	29
b. Sauerstoffverbrauch	30
c. pH im Perfusat	33
B. Untersuchung der Durchströmungsverteilung	33
1. pulsierende-nichtpulsierende Perfusion	34
2. Ausreichende-ungenügende Sofortfunktion	37
V. Zusammenfassung	38
VI. Tabellen und Abbildungen	39
VII. Literaturverzeichnis	56

I. Einleitung

Im Jahre 1974 wurden in der Bundesrepublik Deutschland, bezogen auf 1 Million Einwohner, mehr als 24 chronisch Niereninsuffiziente neu registriert (1). Zur Behandlung und Rehabilitation dieser Patienten stehen prinzipiell zwei Verfahren zur Verfügung: Die Dialyse - aufgeteilt in Zentrumsdialyse, limited care und Heimdialyse - und die Transplantation. Entsprechend der klinischen Situation wird man für jeden Patienten die für ihn günstigste Methode wählen. Die Fünfjahresüberlebensrate bei Anwendung der Hämodialyse ist durch die technische Fortentwicklung der letzten Jahre stark angestiegen. Sie beträgt bei Heimdialyse 71 % und bei Zentrumsdialyse 53 % (1). Die Nachteile dieser Methoden, nämlich die Abhängigkeit des Patienten von der Maschine, der hohe wöchentliche Zeitaufwand und die psychische Belastung, könnten bei optimalen Voraussetzungen durch die Nierentransplantation vermieden werden.

Zur Transplantation können die Organe lebenden oder toten Spendern entnommen werden. Die Erfolgsquote bei Transplantation von Nieren lebender Spender beträgt nach 5 Jahren 68 %, bei Verwendung von Leichennieren nach dem gleichen Zeitraum nur 51 % (1). Da die Transplantation einer Niere von einem lebenden Spender auf die seltenen Fälle von Organspenden zwischen Verwandten beschränkt bleiben muß, sind die Bedingungen zur Transplantation von Leichennieren zu verbessern, um eine gute Rehabilitation möglichst vieler Patienten zu erreichen.

Der Erfolg einer Transplantation ist, abgesehen vom Zustand des Empfängers, der Histokompatibilität und der technischen Routine der Arbeitsgruppe, direkt abhängig von der Vitalität der Niere. Der Vitalitätszustand wiederum kann im Organismus des Spenders und während der Konservierung beeinträchtigt werden. Lange hypotensive Phasen mit Anurie oder warme Ischämie vor der Organentnahme verringern die Erfolgswahrscheinlichkeit wesentlich.

Die Organkonservierung befasst sich mit der Bereitstellung

und Erhaltung des Organs. Dabei sollte das Organ nach Entnahme über einen längeren Zeitraum mit möglichst geringem Funktionsverlust außerhalb des Körpers am Leben erhalten bleiben. Grundsätzlich stehen zwei Verfahren zur Verfügung: a, die Konservierung unter einfacher hypothermer Lagerung und b, die maschinelle hypotherme Dauerperfusion. Diese Arbeit befasst sich nur mit der maschinellen Perfusion. Deshalb soll auch nicht auf weitere Konservierungsverfahren eingegangen werden.

Die maschinelle Dauerperfusion der Niere unter Hypothermie - mit kryopräzipitiertem Plasma oder Humanalbumin als Perfusat - liefert im Experiment sichere Konservierungszeiten von 72-96 Stunden. Vereinzelt wurden noch längere Zeiten beschrieben, allerdings ohne 100%ige Überlebenseaussicht des Organs. Die Qualität eines Konservierungsverfahrens hängt jedoch nicht nur von der maximal möglichen Konservierungszeit ab, genau so wichtig ist eine ausreichende Sofortfunktion der Niere nach Transplantation. Denn nur diese gewährt - überträgt man die experimentellen Befunde auf die klinische Nierenkonservierung - eine hohe Wahrscheinlichkeit, den Patienten nicht in den ersten Wochen nach Transplantation dialysieren zu müssen. Ziel der Konservierung muß es demnach sein, eine Niere möglichst lange bei möglichst guter Funktion vital zu erhalten. Ein wesentlicher Teil der vorliegenden Untersuchung befasst sich deshalb mit der Sofortfunktion der Niere nach Transplantation.

Von mehreren Arbeitsgruppen (2,3,4,5) liegt ein umfangreiches Zahlenmaterial vor, das sich mit dem physikalischen und biochemischen Verhalten der Niere während der maschinellen hypothermen Dauerperfusion befasst (Enzymausschüttung, Lactatbildung, pH usw.). Ziel dieser Untersuchungen war es, aus dem Verhalten dieser Parameter in vitro - während der Perfusion - eine Voraussage über die Funktion nach Transplantation machen zu können. Da diese Parameter jedoch wiederum abhängig sind von der Qualität der Niere vor Entnahme, von der Zusammensetzung des Perfusates und den Perfusionsbedingungen, gibt ein Parameter allein nicht Auskunft über die

Erfolgswahrscheinlichkeit nach Transplantation. Es korreliert z.B. eine geringe Ausschüttung von mitochondrialen Enzymen (GOT) während der Konservierung - Zeichen einer mäßigen Parenchymschädigung - nicht in jedem Fall mit einer guten Funktion nach Transplantation. Vielmehr kann nur die Synopsis mehrerer Befunde eine Aussage machen. In den vorliegenden Untersuchungen sollte deshalb die Beziehung der einzelnen Parameter zueinander geprüft werden.

Verschiedene Ursachen werden für die Begrenzung der Konservierungszeit auf 72-96 Stunden genannt: Gewebsläsionen durch die operative Manipulation, Schädigung der Na^+/K^+ -Pumpe durch Hypothermie, Endothelschäden durch die Perfusion, Substratmangel und schließlich die Ansammlung von toxischen Stoffwechselendprodukten im Perfusat. Neben den allgemein üblichen Perfusionsparametern, wie Ausschüttung von Enzymen (LDH, GOT), pH-Verlauf, Elektrolytveränderungen, Osmolalität und Eiweißkonzentration, wurde in den vorliegenden Untersuchungen das Perfusat fortlaufend auf seinen Sauerstoff- und Glukose-gehalt untersucht, um so eine Substratverwertung - und evtl. Substratmangel - als limitierenden Faktor nachweisen zu können.

Neben dem Stoffwechselverhalten sind physikalisch-mechanische Faktoren für die strukturelle und funktionelle Organerhaltung von Bedeutung. Die ohnehin unphysiologische Situation in vitro wird sich noch stärker schädigend auswirken, wenn die Einzelbedingungen (Druck, Temperatur, Osmolalität) nicht in optimaler Weise aufeinander abgestimmt sind: Um mechanische Faktoren, die die Konservierungsqualität einschränken könnten, zu überprüfen, wurde auf die Kontrolle des renalen Widerstandes und des optimalen Perfusionsdruckes, auf die Kontrolle der Viskosität und der Temperatur des Perfusates besonderes Gewicht gelegt. Eine als Prototyp (6) bereits beschriebene Perfusionsmaschine sollte deshalb verbessert und vereinfacht werden und damit technische Forderungen zur schonenden Organkonservierung möglichst erfüllt und im Experiment bestätigt werden.

Ein Vergleich der Perfusionsdaten mit der Leistung der Niere nach Transplantation zeigt folgendes: Während der Konservierung verhalten sich die Nieren oft annähernd identisch. Man könnte hieraus ableiten, daß die Sofortfunktion nach Transplantation ebenfalls identische Werte aufweisen wird. Wie die Ergebnisse zeigen werden, ist dies jedoch nicht der Fall, was den Wert der derzeit gültigen Vitalitätskriterien einschränkt. Deshalb wurde nach weiteren Vitalitätskriterien gesucht. Hierzu bot sich die Messung der Durchströmungsverteilung an.

Die Funktion der Niere ist unmittelbar abhängig von ihrer Durchströmung. Normalerweise wird die Nierenrinde von ca. 80 %, das Nierenmark von ca. 20 % des renalen Plasmastroms versorgt (7,8). Verschiedene pathologische Umstände, wie Hämorrhagie (9), Hypotension (10), aber auch die allgemeine chirurgische Mobilisation (7), führen zu einer Umverteilung des Perfusionsstromes zugunsten des Markes. Diese Umverteilung ist auch in maschinell perfundierten Nieren zu erwarten, da die Nierenkonservierung unter Hypothermie, mit Flußraten zwischen 0,8 (11) und 2 ml/g/min (12) durchgeführt wird, die Durchströmungsrate der Niere aber in vivo unter normothermen Bedingungen ca. 3-5 ml/g/min (10,13) beträgt. Es sollte deshalb geprüft werden, inwieweit bei der Nierenkonservierung eine Durchströmungsumverteilung auftritt und ob diese von der Perfusionsmethode, der Konservierungsdauer und der Vitalität des Organs abhängig ist.

Die Durchströmungsverteilung in der Niere ist mit Farbstoffverdünnungskurven (14), Xenon- und Krypton-wash-out-Kurven (15), Untersuchungen mit microspheres (10,13,16), Thermosonden (17), mit Radioautographie (9) und Glomerulus-Basalmembranantikörpern (18) untersucht worden. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit einer anderen Methode: Die Möglichkeiten der Silikongummiinjektion zur Erfassung der Durchströmungsverteilung an der hypotherm perfundierten Niere sollten geprüft werden. Das Hauptgewicht lag auf folgenden Fragestellungen:

1. Die maschinelle hypotherme Dauerperfusion kann grund-

sätzlich pulsierend (2) oder nichtpulsierend (6) durchgeführt werden, die Funktionsergebnisse beider Perfusionsarten sind einander gleichwertig (19). Es sollte geprüft werden, ob sich mit beiden Techniken auch Rinde und Mark in gleicher Weise perfundieren lassen.

2. Mit der Dauer der Konservierungszeit verschlechtern sich die Ergebnisse: Während man von einer für 24 bis 48 Stunden konservierten Niere Sofortfunktion erwarten darf - bei Anwendung der verschiedensten Konservierungsverfahren (2, 20, 21, 22) - gilt dies nur noch für einen Teil der über 72 oder 96 Stunden (23) konservierten Nieren (und nur bei Anwendung der maschinellen Perfusion). Es stellt sich die Frage, ob mit der Dauer der Perfusion die Durchströmungsstärke in der Rinde ab- und im Mark zu-nimmt und ob diese Umverteilung als Vitalitätstest zu verwenden ist. (avitale Niere = fehlende Rindenperfusion ?).

3. Die Konservierungsergebnisse der einzelnen Untersucher lassen sich oft nur schwer miteinander vergleichen, da sich die selbe Konservierungszeit mit und ohne verzögerte kontralaterale Nephrektomie, mit hohen und niederen Kreatininverlaufskurven nach Transplantation und mit geringer (Angabe: Niere rosig) oder aber ausreichender Sofortfunktion (Bestimmung der PAH- und Inulin-Clearance) erzielen läßt. Es sollte deshalb die Durchströmungsverteilung in Nieren mit geringer und solchen mit ausreichender Sofortfunktion, beides "vitale" Nieren, bestimmt werden, und zwar sowohl während der Perfusion als auch unmittelbar nach Transplantation. Unterschiede in der Funktion korrelieren möglicherweise mit Unterschieden in der Durchströmungsverteilung.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war somit,

1. die Technik der nichtpulsierenden Perfusion zu vereinfachen und zu verbessern
2. durch eine exakte Abstimmung der einzelnen Perfusionsparameter untereinander möglichst schonende Konservierungsbedingungen zu schaffen, um sowohl die Struktur des Organs, insbesondere jedoch seine Funktion zu erhalten.
3. die Perfusionsparameter auf ihre Tauglichkeit als Vitalitätskriterien zu testen.
4. die Durchströmungs(um)verteilung während Perfusion und nach Transplantation zu erfassen, um so eventuell auf die Funktion nach Transplantation schließen zu können.

II. Material und Methodik

Nephrektomie

Es wurden 17 Experimente ausgeführt. Wir verwendeten kräftige Bastardhunde, die durchschnittlich 20-25 kg Körpergewicht aufwiesen und nicht älter als 4 Jahre waren.

Am Tag vor der Nephrektomie erhält der Hund kein Futter mehr, die Wasserschüssel wird ihm 12 Stunden präoperativ weggenommen. Eine Stunde vor Operationsbeginn wird durch i.m.-Injektion von 0,2 mg/kg Dehydrobenzperidol und 0,07 mg/kg Fentanyl (Thalamonal^R) und 1,0 mg/kg Diacepam (Valium) das Tier prämediziert. Ca. 20 Minuten nach der Prämedikation wird an der Vene über der Tibiakante ein Venenkatheter gelegt und die Narkose mit Pentobarbital-Natrium (Nembutal^R) eingeleitet. Die Barbituratdosis kann mit zunehmender Erfahrung von anfänglich 12 mg/kg auf 5-7 mg/kg reduziert werden. Eine intratracheale Intubation ist dann meist ohne Schwierigkeiten möglich. Die Injektion von 0,5 mg Atropin erfolgt subkutan.

In Rückenlage wird das Tier auf dem Operationstisch fixiert und an das Narkosegerät angeschlossen (Typ Sulla, Drägerwerk). Ein Sauerstoff-Lachgasgemisch im Verhältnis 1:1 sorgt für eine ausreichende Anästhesie. Mit einem Hautdesinfiziens (Sagrotan^R) wird die Haut im Op-Bereich gesäubert, mit Äther getrocknet und sorgfältig jodiert. Nach steriler Abdeckung des ganzen Tieres erfolgt mit 1 mg/kg Suxamethonium (Lysthenon forte^R) die Muskelrelaxation. Dann wird das Tier mit maschinellem Wechseldruck (Pulmomat, Fa. Drägerwerk) beatmet.

Durch einen Mittelschnitt distal des Processus xiphoideus bis über den Nabel hinaus wird das Abdomen breit eröffnet. Dieser relativ lange Schnitt hat den Vorteil, daß von dem selben Schnitt aus bei Variationen der Nierengefäße (z.B. doppelte a.renalis oder Polgefäß) beide Nieren zugänglich sind. Da die rechte Niere wegen der anatomischen Beziehung

zur Leber schwerer zu erreichen ist als die linke, bevorzugen wir die linke Niere zur Nephrektomie. Durch schonende Präparation wird das Organ mobilisiert und die Nierengefäße dargestellt. Nachdem der Ureter ca. 10 cm distal des Nierenbeckens abgesetzt ist, wartet man, bis die durch die chirurgische Manipulation verlangsamte Urinproduktion wieder sichtbar in Gang gekommen ist. Bis zu diesem Zeitpunkt sollte dem Hund 500 ml einer auf Körpertemperatur vorgewärmten physiologischen Kochsalzlösung infundiert worden sein. Knapp an Aorta und Vena cava angesetzte Overholt-Klemmen ermöglichen es, die Niere mit langen Gefäßen zu entnehmen. In die A. renalis wird eine Teflonkanüle eingebunden und das Organ mit 500 ml einer 4°C kalten Ringer-Mannit-C-Lösung (100 ml Mannit 30 %, 900 ml Ringerlösung, NaHCO_3 0,84 g) blutleer gespült - bei einem Druck von ca. 70 cm Wassersäule. Der Auswaschlösung sind 7,5 ml 0,4 molares Natriumbikarbonat, 5000 E Heparin und 200 mg Procain (24) zugegeben. Die Zeit von der Unterbrechung der Durchblutung bis zur Abkühlung des Organs beträgt höchstens zwei Minuten. Anschließend wird die Niere gewogen und an das Perfusionssystem angeschlossen.

Durch schichtweisen Verschluss des Abdomens wird die Operation beendet.

Perfusionssystem

Die Maschine wurde als Prototyp bereits beschrieben (6). Sie wurde weiter vereinfacht und verbessert. (Abb.:1). Im Prinzip besteht ein Perfusionssystem, wie es jetzt verwendet wird, aus einer Rollerpumpe, die eine nichtpulsierende Perfusion gewährleistet, aus Oxygenator, Filter, Blasenfalle und kühlbarem Organbehälter. Auf einer Grundplatte sind zwei derartige Kreisläufe - für jede Niere ein eigenes System - angeordnet.

In der Rollerpumpe werden die Pumpschläuche eines jeden Systems parallel zueinander eingespannt, um trotz getrennter Kreisläufe eine identische Perfusion zu erzielen. Gleich-

zeitig jedoch ist jedes einzelne System so leistungsfähig, daß auch - wenn es sich z.B. um kleine Organe handelt oder nur eine sehr kurzfristige Konservierung nötig ist - zwei Nieren in einem Organbehälter durchströmt werden können. Die Drehzahl der Pumpe und damit die Förderleistung ist von 0 bis 40 Umdrehungen pro Minute stufenlos regulierbar und am Drehzahlmesser abzulesen. Das Perfusat wird vom Boden der Organkammer, die gleichzeitig als Vorratsbehälter dient, luftblasenfrei angesaugt und durch den Oxygenator, den Filter und die Blasenfalle zur Arterie gefördert. Ein im Nebenschluß angebrachtes Manometer erlaubt eine kontinuierliche Kontrolle des Perfusionsdruckes. Zur Oxygenierung wird der Membran-oxygenator (Fa.Travenol) mit gefilterter Zimmerluft durchströmt. Die Luftmenge ist regulierbar von 1-3 l/min und an einem Meßgerät zu überwachen. Eine Oxygenierung mit 1 Liter Luft pro Minute ist ausreichend. Der Filter (Fa.Fenwal), ebenso wie der Oxygenator als Einmalgerät konzipiert, soll feste Partikel und Zellen aus dem Kreislauf entfernen. Die Blasenfalle ist unmittelbar vor die Niere geschaltet. Sie sorgt nicht nur für eine absolut blasenfreie Perfusion, sondern dient gleichzeitig als Pulsdämpfer.

Der nach außen stark isolierte Organbehälter ist doppelwandig gebaut. Über Schnelldkupplungen werden die zu- und ab-führenden Schläuche der Kühlflüssigkeit mit dem Kühlmantel verbunden. Die Kühlung erfolgt also ohne separaten Wärmeaustauscher nur durch den Kühlmantel in der Doppelwandung der Organkammer. Als Kühlflüssigkeit verwenden wir bei stationärem Betrieb Alkohol, dessen Temperatur durch einen separaten Kryostat exakt eingestellt und über dessen Umwälzpumpe gefördert wird. Zur Kühlung während des Transportes ist in der Rückwand des Gerätes ein groß dimensionierter Eis-Wasser-Tank angebracht, dessen Kapazität für 8 Stunden Kühlung ausreicht. Die Umwälzung des Eiswassers besorgt eine eingebaute Pumpe. Diese Pumpe ermöglicht auch die Entleerung des Kühlwassertanks nach der Organkonservierung. Alle Motoren in der Maschine sind batteriebetrieben und

unabhängig vom Stromnetz, so daß ein Transport z.B. im Krankenwagen ohne Unterbrechung der Perfusion möglich ist. Die Batterie gewährleistet einen achtstündigen Betrieb und muß dann über einen eingebauten Transformator nachgeladen werden. In der Klinik erfolgt die Batterieladung und die Stromversorgung der Motoren gleichzeitig direkt vom Transformator. Der von der Batterie gelieferte Gleichstrom wird in pulsierenden Gleichstrom verwandelt. So kann die Zeit, in der Strom durch die Motoren fließt, auf ca. 30 % verkürzt werden, so daß die entstehende Wärme ebenfalls beträchtlich reduziert wird. Die zur Wärmeableitung nötigen Kühlflächen können klein dimensioniert werden.

Das betriebsbereite Gerät ist so handlich, daß es von zwei Personen getragen werden kann (Gewicht ca. 80 kg). Die Bedienung und Wartung der Maschine ist einfach. Die Arbeitsweise von Rollerpumpe, Luftpumpe und der Perfusionsdruck wird durch große Meßgeräte angezeigt. Alle elektrischen Aggregate sind mit Kontrol-Lämpchen abgesichert. Plexiglasabdeckungen über Organkammern und Armaturenbrett schützen die Maschine und verhindern die Erwärmung der außerhalb des Organbehälters verlaufenden Perfusatleitungen. Zur Pflege und Reinigung des Gerätes ist es mit wenigen Handgriffen zu zerlegen. Alle Geräteteile, welche sterilisiert werden müssen, sind auf einer abnehmbaren Platte montiert und können vor der Sterilisierung betriebsfertig zusammengesteckt werden. Die Gefahr einer bakteriellen Kontamination ist somit fast ausgeschlossen.

Maschinelle Perfusion

Vor dem Anschluß der Niere an das Perfusionssystem wird als Bezugspunkt bzw. Leerwert für die späteren Labormessungen eine Perfusatprobe entnommen. Die Zusammensetzung des Perfusates zeigt Tabelle 1.

Der Perfusionsdruck wird anfänglich auf 30 mmHg eingestellt und während der ganzen Perfusion nicht mehr verändert. Unter Berücksichtigung der Zimmertemperatur wird der Kryostat so

einreguliert, daß die Oberflächentemperatur der Niere ca. 7°C beträgt. Dies wird mit einem kleinen Thermometer gemessen, das unter der Niere liegt. In den letzten Versuchen verwenden wir zusätzlich ein elektronisches Fernthermometer.

In zwölfstündigem Intervall entnehmen wir jeweils vier Perfusatproben: Eine Probe aus dem arteriellen Schenkel, eine zweite über einen Dreiwegehahn und einen eigenen Katheter direkt aus der Vene. Diese Proben dienen zur Bestimmung des Sauerstoffpartialdruckes und der Sauerstoffausnutzung im arteriellen und venösen Schenkel des Perfusionssystems (Astrup, Fa. Radiometer, Kopenhagen). Ca. 5 ml arteriell entnommen sind nötig zur Viskositätsmessung (Methode nach Ostwald). 10 ml ebenfalls arterielles Perfusat dienen zur Bestimmung folgender Konzentrationen:

LDH (Lactatdehydrogenase) Methode nach F. Wroblewski (25).

GOT (Glutamatoxalacetattransaminase) Methode nach

A. Karmen (26).

Eiweiß mit der Biuretmethodenach T. E. Weichselbaum (27).

Glukose GOD-Peridmethode^R nach J. Amon (28).

pH (pH-Meter Fa. Knick).

Osmolalität (Halbmikroosmometer Fa. Knauer).

Zum gleichen Zeitpunkt wird Perfusionsdruck und Temperatur notiert. Nach 72 Stunden Perfusionszeit werden die Nieren noch einmal gewogen und dann Transplantiert.

Transplantation

Die Vorbereitung und Prämedikation erfolgt ebenso wie bei der Nephrektomie. Auf dem Operationstisch wird das Tier auf die linke Seite gelegt (bei primär linksseitiger Nephrektomie), so daß die kontralaterale Niere - nach Transplantation des konservierten Organs - von einem Flankenschnitt aus leicht zu entfernen ist.

Die Niere wird an die oberflächlichen Gefäße des Halses transplantiert. V. iugularis externa und A. carotis communis werden freipräpariert und weit distal abgesetzt. Erst wenn die Stümpfe der Halsgefäße zur Anastomose vorbereitet sind,

wird die Niere aus der Perfusionsmaschine entnommen und gewogen. Zur Entfernung von Perfusatresten (Humanalbumin) wird sie mit 250 ml Ringer-Laktat-Lösung durchspült. Da diese Spülflüssigkeit auf 4°C abgekühlt ist, kann die Venennaht (End zu End mit fortlaufendem Faden Mersilene oder Prolene 5-0 atraumatisch) noch unter Hypothermie erfolgen. Erst während der Naht der Arterie erwärmt sich das Organ. Von der Entnahme aus dem Perfusionssystem bis zur Freigabe der Blutdurchströmung vergehen durchschnittlich 14 Minuten. Diese wichtigste Phase der Operation kann durch Standardisierung jedes einzelnen Handgriffes sehr verkürzt werden. Kleine Blutungen aus Nierenhilus und Kapsel werden gestillt. In den Ureterstumpf wird ein Gummikatheter eingebunden und durch eine kleine Öffnung in der Haut ohne weitere Fixation nach außen abgeleitet. Unter der weichen Halshaut des Hundes läßt sich leicht eine subkutane Tasche bilden, in der das Transplantat ohne Verlegung der Gefäße eingenäht werden kann. Anschließend wird durch einen Flankenschnitt die kontralaterale Niere entfernt und verworfen. Während der Transplantation infundieren wir ca. 2500 ml vorgewärmte Elektrolytlösung. Zuckerhaltige Infusionen sind während der Transplantation nicht geeignet, da sie bei der Bestimmung des Plasma-Inulinspiegels stören. Weiterhin werden 50 ml Mannitlösung 20% gegeben. Sie sollen das durch die Konservierung entstandene intrazelluläre Ödem ausschwemmen (29). Zusätzlich werden 40 mg Furosemid (Lasix^R) appliziert zur Stimulation der Urinproduktion des transplantierten Organs.

Bestimmung der Sofortfunktion (PAH-Inulin-Clearance)

Nach Beendigung der Operation werden dem Tier mit einer Infusionspumpe in schneller Tropfenfolge ca. 30 ml einer PAH-inulin-Lösung intravenös infundiert. Diese Lösung enthält in 500 ml isotoner Kochsalzlösung 2,0 g Paraaminohippursäure (Nephrotest^R) und 5,0 g Inulin (Inutest^R). Diese Menge der Stammlösung ist notwendig zur Auffüllung der jeweiligen Verteilungsräume für PAH und Inulin (28% des Kör-

pergewichtes in kg für PAH und 16% für Inulin (30)).Ca.20 Minuten später ist eine gleichmäßige Verteilung im extrazellulären Raum erfolgt, so daß sich eine Konzentration von ca. 2 mg PAH und 25 mg Inulin pro 100 ml Plasma ergibt. Durch Verminderung der Tropfenzahl am Infusomat wird versucht, diese von Sarre (31) als optimal angegebenen Plasmaspiegel für die Dauer der Clearanceperiode konstant zu halten. Trotz dieser Maßnahmen hat es sich als schwierig erwiesen, diese idealen Plasmaspiegel einzustellen. Deshalb werden zwei, meist jedoch drei Clearanceperioden hintereinander durchgeführt. In die Auswertung wird nur diejenige Clearance aufgenommen, deren Plasmaspiegel den idealen Werten möglichst nahekommen und wo die Plasmaspiegel konstant oder minimal abfallend gemessen werden, keinesfalls jedoch ansteigend wegen zu schneller Infusion der Testsubstanzen. Der Urin wird in einem Reagenzglas gesammelt. In der Mitte der Sammelperiode wird eine arterielle Blutprobe zur Bestimmung der Plasmaspiegel, auch für Serumkreatinin, abgenommen. In den gleichen Urinproben werden Natrium und Kalium, Leuzinaminopeptidase (LAP), Lactatdehydrogenase (LDH), Eiweiß, Glukose, pH und Osmolalität gemessen.

Diese Untersuchungen werden am 1., 3. und 7. Tag nach Transplantation zur Verlaufskontrolle in 12 Experimenten (Gruppe A) wiederholt.

In den letzten 5 Experimenten (Gruppe B) wird nur die Sofortfunktion der Nieren bis sechs Stunden nach Transplantation untersucht, auf eine Verlaufsbeobachtung über eine Woche jedoch wegen der gleichmäßig guten Ergebnisse der Gruppe A verzichtet. Die Nieren werden nicht in eine Hauttasche eingenäht, sondern nur durch feuchte Kompressen vor Austrocknung und Wärmeverlust geschützt. Die Bestimmung der Sofortfunktion mittels PAH-Inulin-Clearance erfolgt wie bei den Nieren der Gruppe A. Zusätzlich werden die Nierengefäße ca. 40 Minuten nach Anastomosierung punktiert und die arterielle und venöse Kaliumkonzentration gemessen.

Nach Beendigung der Gefäßnähte wird noch vor der Freigabe

der Durchblutung um die A.renalis herum ein elektromagnetischer Meßkopf (Fa.Hellige) zur Durchströmungsmessung angelegt. Über sechs Stunden wird die Durchblutung der Niere verfolgt. Diese Messung an optimal konservierten Nieren soll grundlegende Werte liefern als Vergleichsmöglichkeit für spätere Versuche unter geänderten experimentellen Bedingungen und evtl. schlechteren Ergebnissen.

Da bei diesen Versuchen die Tiere ca. 8 Stunden am Narkosegerät verbleiben müssen, werden arterielle und venöse Blutgase mehrmals bestimmt und gegebenenfalls korrigiert.

Die Nieren der Gruppe B werden im Anschluß an die letzte Clearance nach der unten beschriebenen Methode mit Kunststoff gefüllt.

Untersuchung der Durchströmungsverteilung

Gefäßdarstellung mit der Silikongummiinjektionstechnik

Zur Darstellung des Kapillarsystems werden die Nierengefäße unter verschiedenen experimentellen Bedingungen mit Silikongummi gefüllt.

Als Silikongummi wird Microfil^R der Firma Canton Biomedical Products (Boulder, Colorado) verwendet. Der Kunststoff besteht aus drei Komponenten, die unmittelbar vor der Füllung der Niere zusammengesetzt werden. Der Berechnung der anzusetzenden Lösungsmenge wird der Halbminutenflow der Niere während der Perfusion zugrunde gelegt (z.B.Flow von 80 ml/min = 40 ml Silikongummi). Der flüssige Kunststoff, der erst ca. 15 Minuten nach Zusammensetzung der Komponenten polymerisiert, wird in einem Schlauch aufgezogen, der an das arterielle Ende der Perfusionssystems angeschlossen wird. So können die Nieren der Gruppe I unter den bei der Konservierung herrschenden Bedingungen gefüllt werden. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß bei unveränderter Umdrehungszahl der Pumpe wegen der höheren Viskosität des Kunststoffes der Füllungsdruck geringfügig höher ist als der Perfusionsdruck während der Konservierung mit niederviskösem Perfusat. Dieser Nachteil der höheren Viskosität des Kunststoffes wird

durch die Temperatur bei Füllung der Nieren - ca. 20°C - im Vergleich zur Perfusatemperatur - 7,5°C - wieder annähernd kompensiert.

Für die Nieren der Gruppe II und III, deren Clearanceleistung nach Konservierung bestimmt wurde, beträgt der Füllungsdruck 120-140 mmHg.

Nach Füllung der Niere werden die Gefäße am Hilus ligiert, um ein Auslaufen des Silikongummis zu verhindern. Zur vollständigen Polymerisation wird die Niere für einen Tag in physiologischer Kochsalzlösung gelagert. Dann wird die Niere in ca. 3 mm dicke Scheiben zerschnitten. Die Schnitte werden in einer Alkoholreihe dehydriert und anschließend mit Salicylsäuremethylester gebleicht. Die Dehydrierungsreihe - 25% Äthanol, 50%, 5% H₂O₂, 50% Äthanol, 75%, 95%, 100% - wird in zweitägigem Rhythmus gewechselt. Kürzere Zeiten erweisen sich als ungenügend, da für die Beurteilung der späteren Bilder alles Nierengewebe restlos aufgehellte sein muß. Aus diesem Grunde muß in vielen Fällen auch die Dehydrierungsreihe ab dem 75%igen Äthanol noch einmal durchlaufen werden. Nach mindestens vierzehntägiger, meist jedoch mehrwöchiger Lagerung in Salicylsäuremethylester werden die Gewebsschnitte mit Ausnahme der injizierten Kapillaren transparent und können bei ca. 25facher Vergrößerung fotografiert werden.

Unter verschiedenen experimentellen Bedingungen werden 25 Nieren gefüllt:

Gruppe I (n = 16)

(pulsierend - nichtpulsierend, Bestimmung der Durchströmung während der Perfusion)

Je zwei Nieren werden für 12, 24, 48 und 72 Stunden unter optimalen Bedingungen pulsierend, die kontralateralen Nieren jeweils nichtpulsierend perfundiert. Das Gerät zur pulsierenden Perfusion unterscheidet sich von dem hier beschriebenen ausschließlich durch die Konstruktion der Pumpe. Durch eine Quetschpumpe soll die physiologische Druckfolge von Systole und Diastole möglichst zeitgetreu erzeugt werden. Diese Versuche waren notwendig als orientierende Vorversuche

um bei vergleichender Untersuchung zwischen pulsierender und nichtpulsierender Perfusion Richtzahlen über das Perfusionsverhalten der Organe zu besitzen (32). Die Nieren werden unmittelbar nach Perfusionsende mit Silikongummi gefüllt. Eine Transplantation wird nicht durchgeführt, um die Durchströmungsverteilung unter Perfusionsbedingungen zu erfassen.

Gruppe II (n = 5)

(Nieren mit guter Sofortfunktion, identisch mit Gruppe B bei der Untersuchung der Sofortfunktion nach Transplantation)

Die Nieren dieser Gruppe werden 72 Stunden unter optimalen Bedingungen nichtpulsierend perfundiert, anschließend transplantiert und die Sofortfunktion (PAH-Inulin-Clearance) bestimmt. Sechs Stunden nach Transplantation erfolgt die Silikoninjektion.

Gruppe III (n = 4)

(Nieren mit geringer Sofortfunktion)

Diese Nieren werden mit hohem Druck von $88 \pm 4/40 \pm 6$ mmHg 72 Stunden pulsierend perfundiert, anschließend transplantiert und die Sofortfunktion bestimmt (PAH-Inulin-Clearance). Die Enzymausschüttung während der Perfusion ist hoch: LDH $358,3 \pm 367,1$ mU/ml, GOT $26,3 \pm 27,3$ mU/ml nach 72 Stunden Konservierung. Die Messung der PAH-Inulin-Clearance ergibt folgende Funktionsdaten: PAH-Clearance $8,35 \pm 5,64$ ml/min und Inulin-Clearance $1,69 \pm 2,25$ ml/min (33) Sechs Stunden nach Transplantation erfolgt die Silikoninjektion.

III. Ergebnisse

1. Perfusionsdaten (n = 17)

Perfusionsdruck, renaler Widerstand:

Zu Beginn der Perfusion auf 30 mm Hg eingestellt, fiel der Druck in den ersten 12 Stunden auf $19,53 \pm 1,74$ mm Hg und blieb bis Perfusionsende nach 72 Stunden ($19,53 \pm 1,91$) konstant. (Abb.2)

Die mittlere Durchströmungsrate betrug $89,17 \pm 17,9$ ml/min, was bei einem mittleren Nierengewicht von 81,9 g einer Durchströmung von $1,10 \pm 0,2$ ml/g·min entspricht.

Der renale Widerstand (Druck / Flow) betrug $18,4 \pm 4,17$
(mm Hg)/(ml/g·min)

Die Ödembildung, gemessen als prozentuale Gewichts Zunahme während der Perfusion, war gering: $15,07 \pm 12,8$ %.
(Abb. 2)

Enzymausschüttung

Der konstante Anstieg der Enzyme im Perfusat war gering:
LDH nach 12 Stunden $43,8 \pm 48,4$,nach 72 Stunden
 $227,6 \pm 147,73$ mU/ml.

GOT nach 12 Stunden $3,1 \pm 2,5$ mU/ml, nach 72 Stunden
 $15,5 \pm 12,0$ mU/ml.

Bezogen auf das Nierengewicht betrug die mittlere Enzymkonzentration für LDH $2,79 \pm 2,1$ mU/ml·g und für GOT
 $0,19 \pm 0,18$ mU/ml·g (Abb.2 und 3, Tabelle 2)

pH, pO₂

Die Konstanz des pH während der Perfusion - trotz fehlender Regulierung - war auffallend: $7,39 \pm 0,12$ nach 12 und $7,36 \pm 0,11$ nach 72 Stunden Perfusion.

Dasselbe galt für den Sauerstoffverbrauch der Nieren
Während der Perfusion: Er betrug $1,18 \pm 0,54$ µg O₂/min·g

nach 12 Stunden und $1,16 \pm 0,34 \mu\text{g O}_2/\text{min} \cdot \text{g}$ nach 72 Std.
(Abb. 4)

Temperatur, Viskosität

Die Temperatur des Perfusates betrug im arteriellen Schenkel $7,4 \pm 0,7^\circ\text{C}$, sie schwankte während des Versuches nur gering.

Dasselbe galt für die Viskosität des Perfusates: Sie betrug im Mittel $2,057 \pm 0,041 \text{ cP}$ nach 12 Stunden bzw. $2,065 \pm 0,022 \text{ cP}$ nach 72 Stunden Perfusion, gemessen bei der jeweils im Perfusat herrschenden Temperatur.
(Abb. 5)

Glukose, Eiweiß, Na^+ , K^+ , Osmolalität

Sie bleiben während der Perfusion weitgehend konstant. Die Endwerte nach 72 Stunden Perfusion betragen bei Natrium 100,3% ($139,8 \text{ mmol/l}$), Kalium 99,7% (14 mmol/l), bei der Osmolalität 98,9% ($333,0 \text{ mosmol/kg}$), Glukose 102,7% ($761,1 \text{ mg/100 ml}$) und bei Eiweiß 102,6% ($6,3 \text{ g/100 ml}$) des Ausgangswertes.

2. Nierenfunktion nach Transplantation

Alle Nieren nahmen unmittelbar nach Transplantation ihre Funktion auf.

Gruppe A

Tabelle 3 zeigt den Verlauf von PAH/Inulin-Clearance und Serumkreatinin bis zum 7. Tag nach Transplantation. Die Zahlen zeigen, daß sich die Nierenfunktion bis zum 7.Tag weitgehend normalisiert hat. (Abb. 6)

Die gute Qualität der Nieren ist auch aus den Urinkonzentrationen zu ersehen. (Tabelle 4, Abb.7 und 8)

Gruppe B

Die PAH/Inulin-Clearance betrug nach Stimulierung mit 40 mg Furosemid und 50 ml Mannitol 20%ig $147,7 \pm 65,0/29,3 \pm 13,3$ ml/min.

Ca. 30 Minuten nach Gefäßanschluß lag die Durchströmungsrate bei $359 \pm 82,5$ ml/min ($4,2 \pm 0,3$ ml/min/g).

Die Nieren nahmen in den ersten Minuten nach Transplantation Kalium aus dem Blut auf: 30 Minuten nach Anschluß an die Gefäße betrug die arterielle Blutkonzentration im Mittel $4,06 \pm 1,7$ mval/l, die venöse $3,64 \pm 1,3$ mval/l.

3. Ergebnisse der Gefäßdarstellung

Gruppe I (pulsierend - nichtpulsierend, Bestimmung der Durchströmung während der Perfusion) (Abb. 9-18)

Auf Grund ihres Perfusionsverhaltens sind alle Nieren dieser Gruppe als vital zu bezeichnen. Die Ausgußpräparate zeigen eine gleichmäßige Perfusion von Mark und Rinde, unabhängig von der gewählten Perfusionstechnik. Mit pulsierender und nichtpulsierender Perfusion lassen sich identische Ergebnisse so wie in der Funktion (34) auch in der Gefäßdurchströmung erzielen, unabhängig von der Höhe des gewählten Perfusionsdruckes. (Mittelwert pulsierendes System 30, nichtpulsierendes System 20 mm Hg). Dies ist um so bemerkenswerter, als für die nichtpulsierende Perfusion ein extrem niedriger Druck verwendet wird. Bei nichtpulsierender Perfusion ist nämlich der renale Widerstand niedriger als bei pulsierender (19) und es kann trotz des geringen Druckes eine hohe Durchströmungsrate erzielt werden.

Ein Befund verdient herausgehoben zu werden: Die Rindenfüllung wird mit der Dauer der Konservierung spärlicher: Die Rindenfüllung ist nach 12 und 24 Stunden besser als nach 48 und 72 Stunden. Es lassen sich aber mit dieser

Technik keine Unterschiede in der Durchströmungsverteilung zwischen Nieren, die für 48 Stunden und solchen, die für 72 Stunden perfundiert wurden, nachweisen.

Gruppe II

(Nieren mit guter Sofortfunktion) (Abb. 19 und 20)

Nach 72 Stunden nichtpulsierender Perfusion, nach Transplantation und Bestimmung der Sofortfunktion erfolgt die Silikongummiinjektion. Die Nierenleistung mit einer durchschnittlichen PAH/Inulin-Clearance von 147,7 / 29,3 ml/min unmittelbar nach Transplantation ist als sehr gut zu bezeichnen. Mit der Funktion korreliert die Darstellung des erhaltenen Kapillarsystems. Rinde und Mark sind gleichmäßig durchströmt. Kein Organbezirk ist von der Durchströmung ausgeschlossen, wie aus der Analyse von Serienschnitten durch ein Organ hervorgeht. Die Zahl der Glomerula pro Bildfläche ist identisch mit der, die auf den Bildern der nichttransplantierten Organe bei gleicher Konservierungszeit zu ermitteln sind.

Gruppe III

(Nieren mit geringer Sofortfunktion) (Abb. 21-23)

Nach 72 Stunden pulsierender Perfusion unter ungünstigen Perfusionsbedingungen erfolgt die Bestimmung der Sofortfunktion und anschließende Kunststoff-Füllung. Im Vergleich zu Gruppe II ist die PAH/Inulin-Clearance wesentlich geringer: 8,3 / 1,69 ml/min. Das Kapillarsystem ist nur spärlich erhalten, in einigen Rindenbezirken fehlt es völlig. Noch gefüllte arteriae interlobulares tragen nur noch wenige vasa afferentia und glomerula.

IV. Diskussion

A. Perfusionsverhalten und Funktion bei nichtpulsierender, hypothermer Perfusion

Mit der nichtpulsierenden, hypothermen Dauerperfusion der Nieren lassen sich im Experiment Konservierungszeiten bis zu 96 Stunden erreichen (23). Manchen Arbeitsgruppen glückte die Konservierung einiger einzelner Nieren über noch längere Zeiträume (35). Die mögliche Konservierungszeit erfährt in diesen Untersuchungen eine übermäßige Bewertung im Vergleich zur Bedeutung anderer Qualitäten, die man von einem transplantablen Organ verlangen muß. Ein gut konserviertes Organ soll unmittelbar nach Transplantation seine Funktion in ausreichendem Maße aufnehmen. Das Experiment zeigt, daß Nieren mit guter Sofortfunktion auch später mit großer Zuverlässigkeit arbeiten. Wir verzichteten in diesen Versuchen bewußt auf eine Substitution der Organleistung, z.B. durch verzögerte kontralaterale Nephrektomie oder Dialyse, wie es aus den Berichten anderer Untersucher zu entnehmen ist. Vielmehr sollte durch peinlich genaue Einhaltung der günstigsten Perfusionsbedingungen (Druck, Temperatur) nachgewiesen werden, daß mit der nichtpulsierenden hypothermen Perfusion von Spendernieren eine sichere Konservierung über 72 Stunden möglich ist, sowohl was die Sofortfunktion des Transplantates als auch die Funktion über eine Woche anging.

Die hier beschriebene Konservierungsmethode bietet eine hohe Erfolgsrate und die Sofortfunktion der Nieren erreicht einen Grad, wie er bisher nach 72 Stunden Konservierung nicht beobachtet wurde. Zum Vergleich seien einige Daten für die Sofortfunktion der Nieren wiedergegeben, wie sie bei kürzerer Konservierungszeit unter Anwendung der einfachen hypothermen Lagerung gewonnen wurden. So fanden Wu et al. (36) nach sechzehnständiger hypothermer La-

gerung der Nieren in einer dem intrazellulären Elektrolytmilieu angepaßten Lösung die PAH-Clearance auf 18,8, die Kreatinin-Clearance auf 12,4 % des Normwertes abgesunken (Sofortfunktionsbestimmung nach Transplantation). Unter ähnlichen Bedingungen und zusätzlicher Anwendung von Sauerstoff- bzw. Xenon-Überdruck wird nach 24 Stunden Konservierung eine mittlere PAH/Inulin-Clearance von 13,36/5,13 ml/min, nach 48 Stunden eine Clearance von 4,74/3,44 ml/min beschrieben (37). Die einfache hypotherme Lagerung liefert demnach deutlich geringere Werte für die Sofortfunktion der Niere - bei kürzerer Konservierungszeit - als die hier beschriebene Konservierungsmethode nach 72 Stunden Perfusion. Die vorliegenden Ergebnisse schneiden auch im Vergleich mit anderen Ergebnissen der pulsierenden maschinellen Perfusion günstig ab. Cooperman gibt an, daß - nach 24-stündiger maschineller Perfusion - die PAH-Clearance nach Transplantation im Mittel 107,1 ml/min, die Inulin-Clearance 27,0 ml/min betrage (38). In den vorliegenden Untersuchungen betrug die PAH/Inulin-Clearance in Gruppe A - nach 72stündiger Perfusion - am 3. Tag nach Transplantation 143,2/32,7 ml/min. Bei den zuletzt konservierten Nieren der Gruppe B wurden noch höhere Werte beobachtet: Die PAH/Inulin-Clearance betrug bei diesen Nieren unmittelbar nach Transplantation im Mittel 147,7/29,3 ml/min; nach Gabe von 40 mg Furosemid. In Versuch 13 und 15 wurden sogar bereits in den ersten 6 Stunden nach Transplantation normale Clearancewerte erzielt (PAH/Inulin-Clearance 198/50 bzw 230/43,5 ml/min). Die Ursache für die gute Sofortfunktion nach Transplantation liegt in einer möglichst schonenden Perfusionstechnik. Es ist allerdings einschränkend zuzugeben, daß nicht alle die Versuchsergebnisse beeinflussenden Faktoren rein zahlenmäßig erfaßt werden konnten. So ist es auffallend, daß, wie ein Vergleich der Gruppen A und B zeigt, die zuletzt operierten Tiere die bessere Sofortfunktion

aufwiesen, dies, obwohl alle Versuche nach dem gleichen standardisierten Schema abliefen. Für den Erfolg einer Konservierungsmethode spielt demnach sicherlich auch die Erfahrung der Untersucher mit dieser Methode eine große Rolle. Mit der Einarbeitung eines Untersucherteams verbessern sich die Ergebnisse - bewußt oder unbewußt - durch kürzere Operationszeiten und schonendere Operationstechnik, verbesserte Narkoseführung, reichliche Infusionstherapie und sorgfältige Perfusatzzusammensetzung. Hierher gehören auch scheinbar unwichtige Dinge wie die - auf das Grad genaue- Einstellung der Oberflächentemperatur der Niere in Abhängigkeit von der Raumtemperatur.

Im folgenden sollen die Ergebnisse im einzelnen besprochen werden.

1. Wahl des optimalen Perfusionsdruckes

Der Perfusionsdruck während der maschinellen Perfusion sollte so niedrig wie möglich gewählt werden, weil sich so ein Schaden durch die Perfusion am besten vermeiden läßt. Wir bevorzugen einen Perfusionsmitteldruck von 20 mm Hg, der bei nichtpulsierender Durchströmung eine Durchströmungsrate von 1,1 ml/min/g liefert.

Zwei pathophysiologische Mechanismen tragen wesentlich bei zur Schädigung des Organs während der maschinellen Konservierung:

- a. Die mechanische Belastung bei hohem Perfusionsdruck führt zu Schädigung insbesondere des Gefäßendothels.
- b. Durch hohen Perfusionsdruck wird viel Flüssigkeit ins Interstitium abgepresst. Dieses interstitielle Ödem ist die eigentliche Ursache für das sogenannte "no reflow"-Phänomen. Durch die Wahl des niederen Perfusionsdruckes von 20 mm Hg lassen sich mechanische Schäden und Ödembildung weitgehend in Grenzen halten.

zu a. Endothelschädigung G.M.Abouna (3) fand bei pulsierender Perfusion bei einem systolischen Druck von 65-70 mm Hg nach dreitägiger Konservierung atrophische Glomerula und Tubulusnekrosen. Obwohl er durch Perfusataustausch diese Schäden vermindern konnte, bleibt dennoch die mechanische Schädigung des Gefäßendothels durch den hohen Perfusionsdruck eine wesentliche Ursache für die ungünstige Funktion dieser Nieren nach Transplantation.

Bei Anwendung eines hohen Perfusionsdruckes (80 mm Hg) kommt J.E.Woods (35) zu ähnliche Ergebnissen: Besonders Arteria und Vena renalis werden geschädigt. Er beschreibt die Adventitia der Nierenvene als ödematös gequollen. Die brüchige Konsistenz der Arterie führt zu Insuffizienz der Anastomose mit Thrombosierung der Arterie und anschließender Infarzierung des ganzen Organs. Eine derart massive Schädigung konnten wir in den vorliegenden Versuchen nie beobachten.

Im Vergleich zu den Angaben anderer Arbeitsgruppen ist der von uns empfohlene Perfusionsdruck von 20 mm Hg sehr niedrig. Bei pulsierender Durchströmung des Organs kann man bei Anwendung des gleichen Mitteldruckes eine Durchströmungsrate von nur 0,8 ml/min/g erreichen, was auf den erhöhten renalen Widerstand bei pulsierender Durchströmung im Vergleich zu nichtpulsierender Durchströmung zurückzuführen ist. (19)

Im Prinzip spielt es zwar keine Rolle, ob die Niere pulsierend oder nichtpulsierend durchströmt wird, vorausgesetzt, es wird die für die Perfusion günstigste Durchströmungsrate gewählt. Aus technischen Gründen wurde jedoch hier die nichtpulsierende Perfusion bevorzugt: Mit einer Rollerpumpe lassen sich leicht zwei Nieren getrennt und doch gleichzeitig (durch das Einlegen von 2 Pumpschläuchen) perfundieren, außerdem läßt sich an der Umdrehungszahl der Pumpe direkt die gewünschte Durchströmungsrate ablesen.

Da Durchströmungsrate und Perfusionsdruck linear miteinander korrelieren (33), erscheint es obendrein sinnvoller, primär die gewünschte Durchströmungsrate einzustellen, als die früher geübte Praxis einzuschlagen und primär einen bestimmten Perfusionsdruck zu wählen: Es läßt sich so einerseits eine Minderperfusion des Gewebes, andererseits ein unnötig hoher - und damit schädlicher - Perfusionsdruck am besten vermeiden.

Unter normothermen Bedingungen ändert sich der renale Widerstand parallel zur Änderung des Perfusionsdruckes, allerdings nur im Bereich der Autoregulationsfähigkeit der Niere. Nach den Ergebnissen von Thureau und Henne (40) bleibt bei Drucksteigerungen von 90 bis 190 mm Hg die Nierendurchblutung unverändert konstant. Ebenso bleibt der postglomeruläre Druck in den peritubulären Kapillaren konstant (39). Da sich diese Anpassung des Nierenwiderstandes an den systemischen arteriellen Mitteldruck präglomerulär vollzieht, bleibt im angegebenen Autoregulationsbereich auch das Glomerulumfiltrat konstant. In Abb. 24 ist die Beziehung zwischen arteriellem Perfusionsdruck und Nierendurchblutung dargestellt (40).

Unterhalb des Autoregulationsbereiches, also unter 70-80 mm Hg arteriellem Mitteldruck ist die Korrelation zwischen Druck und Durchströmung linear (41).

Mc Nay und Abe (10) fanden einen renalen Widerstand von $42,1 \text{ (mm Hg) / (ml/min/g)}$ bei Anwendung eines Perfusionsdruckers von 134 mm Hg. Am unteren Ende des Autoregulationsbereiches der Niere - nämlich bei einem Druck von 77 mm Hg - betrug die Beziehung zwischen Druck und Durchströmungsrate $25,1 \text{ (mm Hg) / (ml/min/g)}$.

Eine ähnliche Beziehung konnten Benjamin und Sell (4) aufstellen. Sie perfundierten isolierte Hundenieren pulsierend bei $24-25^{\circ}\text{C}$ mit einem systolischen Druck von 75-95 mm Hg. Während der vierstündigen Versuchsdauer änderte sich der renale Widerstand nur gering und betrug im

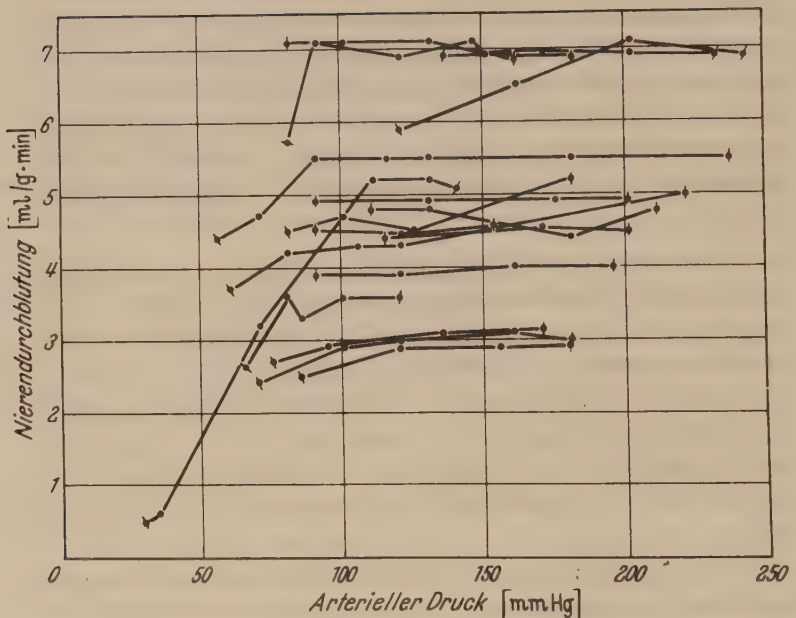


Abb. 24 nach Thureau und Henne (40) siehe Seite 25

Mittel $29,8 \text{ (mm Hg)} / (\text{ ml/min/g })$. In unseren Experimenten wurde bei $7,4^{\circ}\text{C}$ bei nichtpulsierender Perfusion und einem mittleren Perfusionsdruck von $19,5 \text{ mm Hg}$ ein renaler Widerstand von $18,4 \text{ (mm Hg)} / (\text{ ml/min/g })$ gefunden.

Zwei Folgerungen kann man aus diesem Ergebnis ableiten:

1. Der renale Widerstand wird durch Hypothermie nicht erhöht.
2. Trotz eines extrem niederen Perfusionsdruckes lässt sich wegen des geringen renalen Widerstandes ein relativ großes Perfusatvolumen pro Minute durch das Organ fördern. So werden die Forderungen nach einerseits schonender Perfusion und andererseits ausreichender Stoff-

wechselregulation (Oxygenierung, Angebot von Energieträgern und Abtransport von CO_2 und Stoffwechselprodukten) gleichzeitig erfüllt.

zu b. Ödementstehung Bei dem Perfusionsdruck von 20 mm Hg und der Temperatur von $7,4^\circ\text{C}$ betrug die Ödembildung 15,07% des Anfangsgewichtes der Nieren. Diese relativ geringe Gewichtszunahme ist zurückzuführen neben der Zusammensetzung des Perfusates (Hyperosmolalität) und der hohen Corticoidkonzentration auf den niederen Perfusionsdruck.

Generell kann gesagt werden, daß die Ödementstehung während der Konservierung bei hohem Perfusionsdruck eine wesentliche Ursache für die Begrenzung der Konservierungszeit ist. Das interstitielle Ödem führt durch eine Kompression der kleinen Gefäße zu einer Minderperfusion des Gewebes und in Folge dessen zu einer irreversiblen Gewebsschädigung. An derart geschädigten Nieren beobachtet man das sogenannte "no reflow"-Phänomen (42); d.h. nach Anastomosisierung und Freigabe der Durchblutung kommt es wegen der Einengung der kleinen Gefäße durch das interstitielle Ödem nicht zu einer sofortigen Blutdurchströmung der Niere. Da bei der Niederdruck-Perfusion die Ödembildung wie beschrieben gering ist, ist dies unter anderem eine Erklärung für den Erfolg bei Anwendung dieser Methode zur Nierenkonservierung.

c. Perfusatviskosität Bei tiefen Temperaturen nimmt die Viskosität jeder Perfusionslösung zu (43) und damit steigt auch der Druck, der notwendig ist, um die ideale Flowrate von 1 ml/min/g zu erzielen. Nur ein Perfusat, das auch bei Hypothermie noch niederviskös ist, schränkt die Vorteile nicht wieder ein, die die Perfusion mit 20 mm Hg an sich bietet. Über die Viskosität der von den einzelnen Untersuchern verwendeten Perfusionsmedien liegen keine

genaueren Angaben vor, so daß ein Vergleich nicht möglich ist. In den vorliegenden Versuchen schwankte die Viskosität des Perfusates äußerst gering - gemessen bei der jeweiligen Perfusatemperatur - zwischen 2,09 und 1,99 cP. Das Perfusat erwies sich demnach bei der gleichen Temperatur geringer viskös als Plasma und erst Recht als Blut. Zum Vergleich sei die Viskosität des Plasmas bei Körpertemperatur erwähnt: Sie beträgt bei 37°C 1,6 cP (44). Die Viskosität des Perfusates ist demnach in Hypothermie nur unwesentlich höher als die von Plasma in Normothermie. Immerhin spielen bereits kleine, meist nicht beachtete Temperaturschwankungen für die Viskosität des Perfusates eine Rolle: So steigt die Viskosität bei einem Temperaturabfall des Perfusates von 6,5 auf 5,0°C von 2,09 auf 2,24 cP. Auch aus strömungstechnischen Gründen sollte die Niere deshalb nicht unter 7°C perfundiert werden.

d. Perfusatemperatur Eng mit der Frage nach der optimalen Viskosität und damit möglicher Perfusion ist die Suche nach der optimalen Konservierungstemperatur verbunden. In den vorliegenden Untersuchungen erwies sich eine mittlere Perfusatemperatur von 7,5°C als besonders günstig. Da das wesentliche Konservierungsprinzip der maschinellen Dauerperfusion die Reduzierung des Stoffwechsels durch Hypothermie ist, ist es verständlich, eine möglichst tiefe Temperatur wählen zu wollen, um den ursprünglich für die maschinelle Perfusion als optimal angegebenen Temperaturbereich von 8-12°C (2) weiter einzuengen. Hier sei jedoch auf Untersuchungen hingewiesen, die gezeigt hatten, daß sich bei Verwendung von kryopräzipitiertem Plasma als Perfusat eine Perfusatemperatur von 3-4°C als ungünstig erwies (45). Diese Befunde wurden kürzlich von Hardie bei Verwendung von Humanalbumin als Perfusat bestätigt: Er fand ebenfalls, daß eine Perfusatemperatur unter 5°C ungünstig sei und schließt aus dem Serumkrea-

tininverlauf seiner über 48 Stunden konservierten Nieren, daß die Temperatur im Perfusat mehr als 5°C betragen solle (46).

Dies gibt Anlaß, auf ein technisches Problem kurz einzugehen: In dem von uns verwendeten Gerät läßt sich das Perfusat wahlweise über Eiswasser - technisch wenig aufwendig und billig - oder über einen Kryostaten kühlen. Die Regulierung über Eiswasser ist jedoch nie so exakt, wie die Einstellung über einen Kryostaten. Wir empfehlen deshalb die Kühlung mit Eiswasser nur für den Transport und kurzfristig, für den stationären Betrieb und die Langzeitkonservierung jedoch die Kühlung mit einem Kryostaten. Es sei auch daran erinnert, daß die geforderte Kühlleistung von der Außentemperatur beeinflußt wird und nicht zuletzt auch von der Durchströmungsrate der Nieren. Will man bei einer konstanten Temperatur perfundieren, muß man von Versuch zu Versuch die Temperatur der Kühlflüssigkeit variieren. In der im Optimalbereich konstant gehaltenen Temperatur sehen wir eine der Ursachen für die erzielte Sofortfunktion der Nieren nach Transplantation.

2. Vitalitätsparameter

a. Enzymausschüttung Die während der Perfusion ausgeschüttete Enzymmenge soll möglichst gering sein. Eine schonende Perfusionstechnik vermag sie beträchtlich zu senken. Dementsprechend konnten die früher als maximal zulässigen Werte (bei vitalen Nieren obere Grenze der LDH-Ausschüttung 10, der GOT 0,4 mU/ml/g Nierengewicht (47)) weiter gesenkt werden. In diesen Versuchen betrug nach 72 Stunden die LDH-Konzentration 2,8 mU, die GOT-Konzentration 0,19 mU pro ml Perfusat und Gramm Nierengewicht. Wir führen dies neben der verbesserten Perfusionstechnik auf das geänderte Perfusat (Humanalbumin statt kryoprä-

zipitiertem Plasma) mit seiner hohen Corticoidkonzentration zurück. Dem Verhältnis der Enzymausschüttung (LDH/GOT) entspricht auch ihre mengenmäßige Verteilung in der Niere, so daß zur Vitalitätsvorhersage die Bestimmung der LDH genügt, da von ihr größere Mengen ausgeschüttet werden. Es muß allerdings auf die beträchtliche Streubreite der LDH-Ausschüttung hingewiesen werden: So betrug in den vorliegenden Versuchen die höchste LDH-Ausschüttung 9,1, die niedrigste 0,77 mU/ml/g und beide Nieren waren als vital zu bezeichnen. Die Enzymausschüttung läßt dementsprechend auch nur eine Trennung zwischen vitalen und avitalen Nieren zu, eine Voraussage über die Sofortfunktion der Niere erlaubt sie nicht.

b. Sauerstoffverbrauch Bei Normothermie und physiologischem Druck ist der Sauerstoffverbrauch der Niere nach den Ergebnissen von Kramer und Deetjen (48) abhängig von der glomerulären Filtrationsrate und der Natriumrückresorption. (Abb.25) Dieser Funktionsstoffwechsel ist zu unterscheiden vom Basalstoffwechsel. Er ist definiert als der Stoffwechsel der nicht-filtrierenden Niere (also bei einem Filtrationsdruck unter 60 mm Hg) oder als 25 % derjenigen Energie und damit O₂-Menge, welche die filtrierende Niere verbraucht (nutritiver Stoffwechsel) (49). In allen Experimenten liegt der Perfusionsdruck weit unter der kritischen Grenze zum Filtrationsdruck. Ferner ist zu berücksichtigen, daß die Organkonservierung unter Hypothermie durchgeführt wird und damit eine weitere Verringerung des Stoffwechsels erzielt wird. N.A.Lassen et al. (50) bestimmten den Sauerstoffverbrauch unter Normothermie für den Basalstoffwechsel der Niere mit ca. 1 μ mol/min/g. Dieses Ergebnis wird durch die Untersuchung von Deetjen und Kramer (51) bestätigt. Sie geben den O₂-Basalverbrauch mit 110 μ mol/min/100 g an, siehe Abb.26. (52).

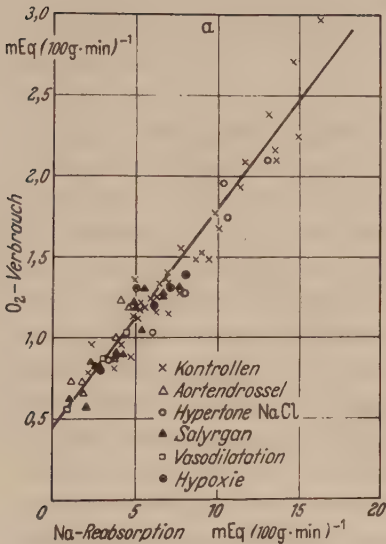


Abb. 25
nach Deetjen und Kramer
(48)

O_2 Verbrauch der Niere
in Abhängigkeit von
der Na^+ -Reabsorption
unter verschiedenen
experimentellen Be-
dingungen

Bei der Temperatur von 7°C wird der Stoffwechsel auf 3-6 % des Basalbedarfs vermindert (53). Der in den vorliegenden Versuchen gemessene Sauerstoffverbrauch beträgt $0,03 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ und stimmt damit auch mit dem nach M.N.Levy (53) und N.A.Lassen (50) zu erwartenden Verbrauch überein.

Auffallend war die Konstanz des Sauerstoffverbrauchs über 72 Stunden. Der Verbrauch ist unabhängig von der Durchströmungsrate und der Perfusionstechnik (pulsierend - nichtpulsierend) (33). Der Bedarf ist zwar gering und kann durch Oxygenierung mit Zimmerluft gedeckt werden, so daß eine zusätzliche O_2 - oder CO_2 -Zufuhr unnötig ist, er ist aber trotzdem ein gewichtiges Argument zugunsten der Perfusion, zu ungunsten der einfachen Lagerung. Denn die hypotherme Lagerung bietet keinen Sauerstoff an, auch dann nicht, wenn zusätzlich Sauerstoffüberdruck angewendet wird.

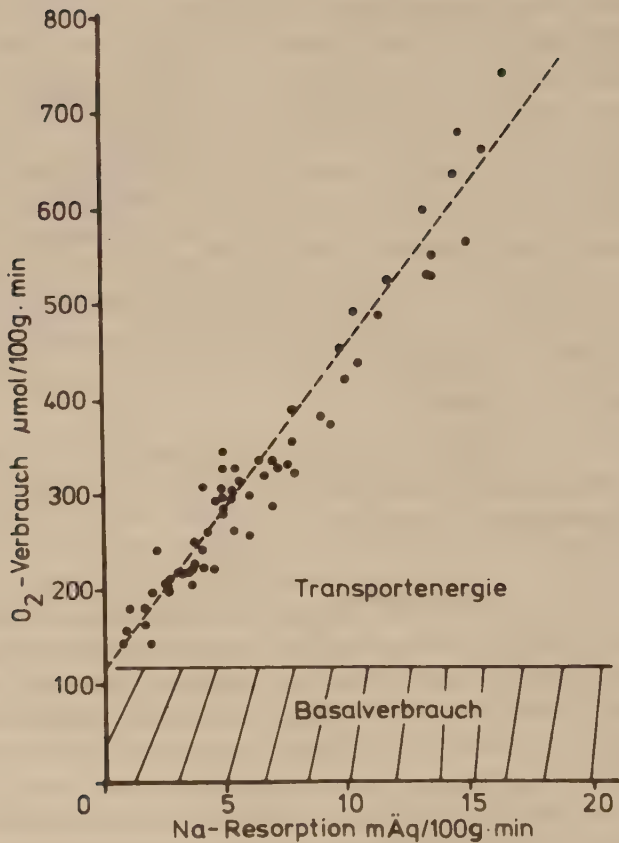


Abb. 26

nach Deetjen, P. und K. Kramer (54)

O₂-Basalverbrauch der Niere unter Normothermie

Dies wurde eingehend von Lokkegaard untersucht (54):

Nach Lokkegaard wären 10-14 Stunden O₂-Überdruck von 50 atm notwendig, um auch die inneren Schichten der Niere mit Sauerstoff zu versorgen. 50 atm sind jedoch für die äußeren

Nierenschichten toxisch, abgesehen davon, daß im allgemeinen nur 2-3 atm Überdruck zur Konservierung empfohlen werden (21).

c. pH Unter der Annahme, daß ein geschädigtes Organ saure Stoffwechselprodukte durch anaerobe Glykolyse freisetzt, stellt die Bestimmung des pH theoretisch ein ideales Vitalitätskriterium dar. Die Beurteilung des pH stößt jedoch auf Schwierigkeiten, wenn versucht wird, den pH durch variable O_2/CO_2 -Gemische bei der Oxygenierung konstant zu halten. Einige Geräte besitzen sogar eine automatische pH-Titriereinrichtung (55,56). Couch und Mitarbeiter (57) sowie Alexander und Mitarbeiter (58) empfehlen deshalb die Messung des Oberflächen-pH als Vitalitätskriterium perfundierter Nieren. Dieses Verfahren hat sich in der Klinik zum einen aus methodischen Gründen, zum anderen deshalb nicht durchsetzen können, weil der Oberflächen-pH von der Durchströmungsrate abhängig ist und deshalb nur eine Aussage über den Flow zuläßt (59). In dem von uns verwendeten Gerät erfolgt keine Regulierung des pH während der Perfusion, das Perfusat wird allein mit Zimmerluft oxygeniert (über eine Luftpumpe). Änderungen des pH werden so nicht verschleiert. Unter diesen Umständen gibt der pH wertvolle Hinweise auf den Erhaltungszustand perfundierter Nieren, was auch mit anderen Untersuchungen übereinstimmt (60). Bei allen Nieren verhielt sich der pH auffallend konstant. (Abb.4)

B. Untersuchung der Durchströmungsverteilung

Wie die mit der Silikongummiinjektionstechnik gewonnenen Abbildungen zeigen, läßt sich mit dieser Technik sehr wohl die Durchströmungsverteilung in der hypotherm perfundierten Niere unter verschiedenen experimentellen Bedingungen qualitativ abschätzen. Die Silikongummilösung

bietet vor den herkömmlicherweise zur anatomischen Präparatedarstellung verwendeten Kunststoffen (z.B. einem Acrylharz) den Vorzug, geringer viskös zu sein und langsamer auszuhärten. Weitere Vorteile der Silikongummilösung wurden von Sobin zusammengefasst (61), sie sind unter anderem: geringe Oberflächenspannung, fehlende Toxizität für die Blutgefäße, keine Volumenveränderung des Ausgusses und geringe Partikelgröße (unter 1μ).

Die Nieren konnten in den vorliegenden Untersuchungen mit dem Originalperfusionsdruck - der bei der maschinellen hypothermen Dauerperfusion sehr viel niedriger als in vivo istgefüllt werden. Die Methode ermöglicht so Aussagen über die Durchströmungsverteilung bei der Verwendung verschiedener Perfusionstechniken (pulsierend - nichtpulsierend), zumal für die Füllung der Niere die Perfusionsbedingungen nicht geändert zu werden brauchten: Der Schlauch mit der Silikongummilösung konnte direkt an den arteriellen Schenkel des Perfusionsgerätes angeschlossen werden und es konnte abgewartet werden, bis bei Füllung der Nieren die Lösung aus der Vene wieder herausfloß. Diese Art der Füllung war uns bei Verwendung eines Acrylharzes nie gelungen. Im folgenden sollen die Ergebnisse im einzelnen besprochen werden.

1. Pulsierende - nichtpulsierende Perfusion

Pulsierend und nichtpulsierend perfundierte Nieren unterscheiden sich nicht in ihrer Funktion nach Transplantation (19). Mit der Silikonausgußtechnik läßt sich noch eine weitere Aussage machen: Die Durchströmungsverteilung in Mark und Rinde ist in pulsierend und nichtpulsierend perfundierten Nieren identisch. Dies überrascht, da für die nichtpulsierende Perfusion ein extrem niedriger Perfusionsdruck (20 mm Hg) gewählt wurde und man nicht sicher sein konnte, ob es bei diesem Druck noch zu einer gleichmäßigen Perfusion von Mark und Rinde käme. Der Druck von 20 mm Hg hat

sich für die nichtpulsierende Perfusion als besonders günstig erwiesen. Für die pulsierende Perfusion werden hingegen höhere Drucke empfohlen: Lokkegaard konnte zeigen, daß Nieren mit einem Druck von 60/35 mm Hg perfundiert werden sollten (12), geringe Drucke (10-30 mm Hg) lieferten in seinen Versuchen zu geringe Flowraten (ca. 0,2 ml/min/g). Bei nichtpulsierender Perfusion lassen sich jedoch mit einem Druck von 20 mm Hg Flowraten von 0,8-1,0 ml/min/g erzielen, was damit erklärt werden kann, daß der renale Widerstand bei nichtpulsierender Perfusion geringer ist als bei pulsierender (19). Dies läßt den Schluß zu, daß die Nieren bei der maschinellen hypothermen Perfusion mit mindestens 0,8 ml/min/g perfundiert werden sollten und daß sich mit dieser Flowrate - unabhängig von der Perfusionsart - eine gleichmäßige Rindenperfusion erzielen läßt.

Wie die Abbildungen zeigen, ist allerdings sowohl bei pulsierender als auch bei nichtpulsierender Perfusion der corticale Nierendurchfluß relativ vermindert, der des Markes erhöht. Dies stimmt mit den Beobachtungen anderer überein: So konnte Dougherty eine Umverteilung des Nierendurchflusses an der isoliert perfundierten Niere sowohl mit der Silikontechnik als auch mit Krypton⁸⁵-Washout-Kurven nachweisen (62). Miller gelang der Nachweis verminderter Rindendurchströmung mit Hilfe von radioaktiven "Microspheres" (63). Eine relative Verminderung der Rindenperfusion nach 48 Stunden Konservierungszeit muß geradezu erwartet werden, wenn man in Rechnung setzt, daß bei der Konservierung Flowraten von 0,8-1,5 ml/min/g verwendet werden, der normale Durchfluß aber 3,5-5 ml/min/g beträgt und demnach der Hauptanteil der Durchströmung auch hauptsächlich reduziert wird (62). Weiterhin konnte Rosen zeigen, daß allein die chirurgische Mobilisierung der Niere - ohne Perfusion oder Transplantation - genügt, den Rindenanteil der Nierendurchblutung von 80 auf 65 % zu senken (7), und schließlich ist die Situation der Niere während

der hypothermen Perfusion sicherlich der Situation während der hämorrhagischen Hypotension vergleichbar, bei der es ebenfalls zu einer Umverteilung der Nierendurchströmung kommt.

A.Small wies nach (64), daß schon unmittelbar mit Beginn der Perfusion die Durchströmung der äußeren Rindenschichten vermindert, die der inneren Schichten relativ vermehrt ist. Allerdings war diese Umverteilung - nach Lösen des initialen Vasospasmus? - in den ersten 4 Stunden der Perfusion rückläufig. Ein normales Muster der Durchströmungsverteilung wie in vivo konnte allerdings auch Small nicht beobachten.

Die vermehrte Füllung der Mark- und Papillen-region und die relativ verminderte Füllung der Rinde in den Silikonausgußpräparaten weist ebenfalls qualitativ auf eine Durchströmungsumverteilung bei allen von uns konservierten Nieren hin. Wichtiger erscheint jedoch folgender Befund:

Mit der Konservierungsdauer nahm die Intensität der Rindenfüllung ab. Diese Abnahme trat in den ersten 24 Stunden der Perfusion auf, danach kam es zu keinen weiteren Veränderungen. So unterscheiden sich Nieren, die für 48 Stunden und solche, die für 72 Stunden perfundiert wurden, nicht in ihrem Verteilungsmuster. Die Beobachtung, daß der Grad der Umverteilung nach 24 Stunden Perfusion ein konstantes Niveau erreicht hat, deckt sich mit anderen bei der Nierenkonservierung erhobenen Befunden: So lassen sich Nieren bis zu 24 Stunden mit den verschiedensten Konservierungstechniken erfolgreich mit ausreichender Sofortfunktion konservieren. Nach 24 Stunden Perfusion wird - unabhängig vom Perfusionsmedium - ein Anstieg des Lactat/Pyruvat-Quotienten gefunden (23). Es erscheint demnach wesentlich, der Frage nachzugehen, warum sich Nieren in den ersten 24 Stunden der Konservierung grundsätzlich anders als im späteren Verlauf verhalten.

2. Durchströmung in Nieren mit guter und ungenügender
Sofortfunktion

Die Silikonfüllung der normothermen Niere unmittelbar nach Bestimmung der Sofortfunktion (ca.6 Stunden nach Transplantation) brachte wertvolle Hinweise auf die Durchströmungsverteilung, die ausgezeichnet mit dem Funktionszustand der Niere korrelierten: Während Nieren mit guter Sofortfunktion (Gruppe II, $C_{PAH/Inul.} 147/29 \text{ ml/min}$) eine deutliche, gleichmäßige Rindenfüllung aufwiesen, war die Rinde in Nieren mit geringer Funktion (Gruppe III, $C_{PAH/Inul.} 8,3/1,69 \text{ ml/min}$) nur spärlich perfundiert. Die Bestimmung der Durchströmungsverteilung nach Transplantation mit Hilfe der Silikontechnik läßt sich allerdings nur im akuten Experiment durchführen, da die Niere vor Füllung wieder entnommen und anschließend fixiert werden muß. Für die Klinik kommen andere Methoden (z.B. Xenon- und Krypton-washout-Kurven) in Betracht. Diese Verfahren sollten nach Transplantation angewendet werden, da - wie die vorliegenden Untersuchungen zeigen - Unterschieden in der Sofortfunktion Unterschiede in der Durchströmungsverteilung entsprechen.

Die üblicherweise während der Perfusion - vor Transplantation! - gemessenen Vitalitätskriterien - Perfusionsdruck, Flow, Gewichtsanstieg und Enzymausschüttung - lassen keine Unterscheidung zwischen Nieren mit geringer und ausreichender Sofortfunktion zu. In der Durchströmungsverteilung kommen diese Unterschiede zum Ausdruck, allerdings erst nach Transplantation. Es ist demnach weiterhin ein Vitalitätskriterium zu suchen, das bereits vor Transplantation eine Aussage darüber zuläßt, ob das "vitale" Organ eine geringe oder ausreichende Sofortfunktion zeigen wird.

Zusammenfassung

17 Bastardhunde werden einseitig nephrektomiert. Die Nieren werden 72 Stunden nichtpulsierend mit Humanalbumin hypotherm perfundiert. Während der Perfusion werden in 12-stündigem Abstand Perfusatproben entnommen und die Konzentration von Na^+ , K^+ , LDH, GOT, Eiweiß und Glukose gemessen, ferner pH, Osmolalität, Temperatur, arterielle und venöse Sauerstoffspannung und die Viskosität und der Perfusionsdruck bestimmt. Nach 72stündiger Konservierung wird das Organ dem Spender reimplantiert und die verbliebene Niere entfernt. Die Sofortfunktion der Nieren und die Funktion über eine Woche werden mit der PAH/Inulin-Clearance gemessen (Gruppe A). Bei den Nieren der Gruppe B wird neben der Sofortfunktion die Durchströmungsrate und die arterielle und venöse Kaliumkonzentration ermittelt. Es kann gezeigt werden, daß mit der nichtpulsierenden, hypothermen Perfusion gute Ergebnisse in der Sofortfunktion und im Verlauf über eine Woche zu erzielen sind. Darüberhinaus wurden unter verschiedenen experimentellen Bedingungen Nieren mit einer Silikongummilösung gefüllt. Es wurde die Durchströmungsverteilung während der Perfusion mit pulsierender und nichtpulsierender Technik, ferner unter günstigen und ungünstigen Konservierungsbedingungen jeweils in Korrelation zur Funktion nach Transplantation bestimmt. Es zeigt sich, daß die Durchströmungsverteilung pulsierend und nichtpulsierend perfundierter Nieren gleich ist. Die Funktion nach Transplantation korreliert mit der Füllung der Rindengefäße.

Tabelle 1

Ansatzschema für ca. 800 ml Perfusionslösung

	KABI ^R	IMMUNO ^R
Humanalbumin 20%	300 ml	300 ml
NaCl 0,9 %	500 ml	500 ml
Glukose 50 %	10 ml	10 ml
Glukose 5 %	--	40 ml
Insulin	80 IE	80 IE
Mg ₂ SO ₄ 20 %ig	2 ml	2 ml
KCl 20 %ig	4 ml	5 ml
Totocillin	1,5 g	1,5 g
Prednisolon	100 mg	100 mg
Na ⁺ -Bicarbonat 4%	6 ml	5 ml

Tabelle 2

LDH im Perfusat (mU/ml)

GOT im Perfusat (mU/ml)

Vers.

Nr.	0	12	24	36	48	60	72	0	12	24	36	48	60	72 Std.
1	10	29	105	153	181	229	286	0	2	4	7	11	16	18
2	19	200	430	477	534	574	620	0	11	22	27	36	40	54
3	10	19	24	43	48	67	95	0	0	2	3	4	6	7
4	10	19	29	38	57	67	124	0	2	2	3	3	4	7
5	10	19	48	57	86	95	124	0	2	2	3	4	7	9
6	10	48	143	191	239	258	266	0	2	6	8	13	13	16
7	10	19	29	38	48	67	76	2	2	2	3	3	4	4
8	10	19	248	277	296	334	420	0	2	14	16	20	26	31
9	0	19	38	38	48	143	143	0	2	3	3	3	4	4
10	10	19	48	89	115	124	153	0	2	2	4	7	7	9
11	0	38	57	67	76	95	105	0	7	13	13	13	16	16
12	10	29	67	76	76	86	134	0	4	7	7	9	9	11
13	10	19	48	76	134	162	210	0	2	4	7	9	9	11
14	19	19	29	86	191	200	210	0	2	4	8	11	18	22
15	14	29	86	95	95	105	143	0	4	7	7	9	9	16
16	29	115	248	305	363	372	391	2	4	7	9	11	13	16
17	10	86	200	229	248	267	370	2	4	4	7	7	9	13
M	11,2	43,8	110,2	136,8	166,7	190,8	227,6	0,3	3,18	6,18	7,94	10,1	12,3	15,5
+	6,6	48,4	111,5	122,4	134,3	137,4	147,7	0,7	2,5	5,4	6,1	8,0	9,2	12,0

Tabelle 3a

PAH-Inulin-Clearance im Verlauf über eine Woche

Vers. Nr.	0. Tag		1. Tag		3. Tag		7. Tag	
	C-PAH (ml/min)	C-Inul. (ml/min)	C-PAH (ml/min)	C-Inul. (ml/min)	C-PAH (ml/min)	C-Inul. (ml/min)	C-PAH (ml/min)	C-Inul. (ml/min)
1	41,3	16,6	-*	-*	48,0	14,4	41,0	14,0
2	0,0	0,0	30,1	3,0	-*	-*	117,3	16,5
3	61,9	24,6	80,1	14,2	78,2	28,1	175,0	63,6
4	41,8	5,4	38,0	4,75	85,5	9,64	172,5	28,5
5	48,1	4,5	70,0	15,2	-*	-*	121,0	19,8
6	5,8	0,07	5,2	0,3	13,0	1,2	60,7	23,2
7	107,0	25,8	184,0	41,6	212,0	70,5	213,0	68,0
8	51,0	17,5	61,5	21,6	94,5	37,5	211,0	60,0
9	120,0	16,9	127,0	20,1	193,0	37,5	185,0	43,5
10	43,0	5,5	83,2	10,5	194,0	32,0	259,0	56,6
11	89,5	13,0	194,0	31,0	255,0	49,0	272,0	68,5
12	75,0	14,6	148,0	36,6	259,0	56,0	255,0	57,4
M	57,03	12,04	92,83	18,09	143,23	32,73	173,54	43,30
±	36,3	8,8	62,5	13,7	89,2	19,6	75,6	21,4

-* nicht gemessen

Tabelle 3b

Serum-Kreatinin im Verlauf über eine Woche (mg/100 ml)

Vers. Nr.	0. Tag	1. Tag	3. Tag	7. Tag
1	1,1	1,25	2,0	1,8
2	0,3	0,95	1,8	2,1
3	0,3	0,6	1,7	1,0
4	0,4	0,8	1,2	1,2
5	0,15	0,7	1,6	1,0
6	0,5	0,8	1,6	2,1
7	0,4	0,7	0,7	0,9
8	0,3	0,3	0,5	1,4
9	0,2	0,8	0,9	1,0
10	0,25	0,8	1,2	0,8
11	0,4	0,8	0,75	0,3
12	0,2	0,2	0,5	0,5
M	0,38	0,74	1,22	1,19
±	0,25	0,27	0,54	0,58

Tabelle 4

Urinkonzentrationen nach Transplantation

	0.Tag	1.Tag	3.Tag	7. Tag
Natrium (mval/l)	119,4	97,1	100,6	99,8
Kalium (mval/l)	19,5	20,9	24,2	22,4
LDH (mU/ml)	173,3	86,2	45,5	52,7
LAP (mU/ml)	3,0	4,27	5,44	4,9
Eiweiß (g/100 ml)	1,07	1,41	0,33	0,35
Glukose (mg/100 ml)	171,4	88,0	63,3	11,0
Osmolalität (mosmol/kg)	298,1	285,7	347,1	364,0
pH	7,88	7,55	6,72	6,50

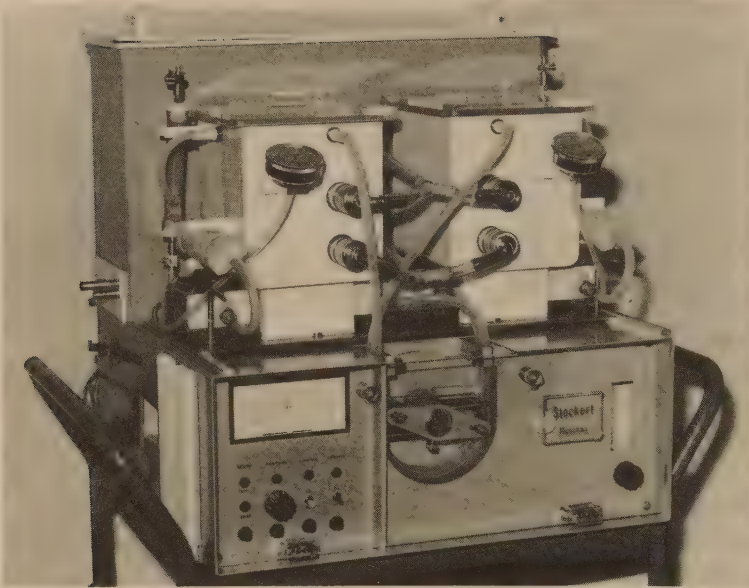


Abb. 1 Perfusionsgerät zur Nierenkonservierung

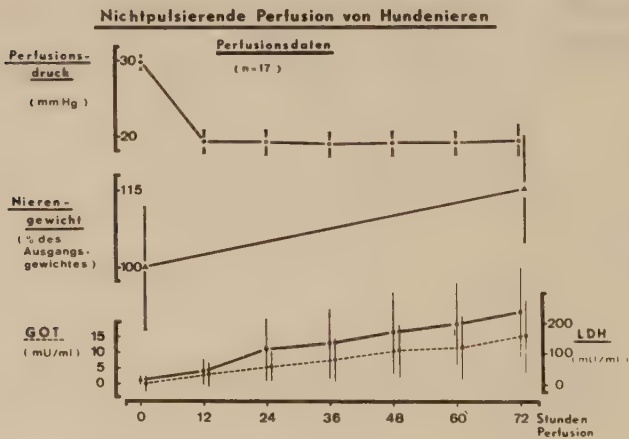


Abb. 2 Verhalten von Perfusionsdruck, Nierengewicht und Enzymausschüttung während 72 Stunden nichtpulsierender Perfusion von Hundenieren

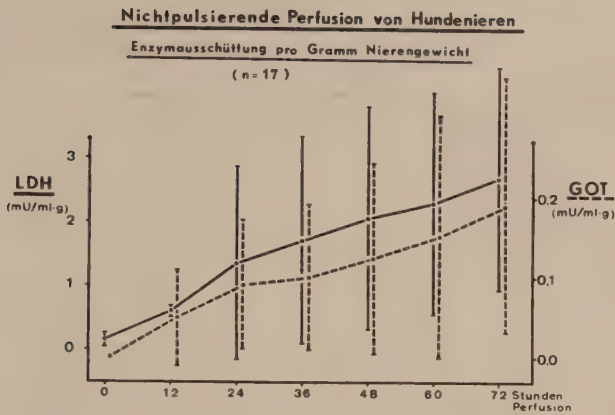


Abb. 3 Enzymkonzentration im Perfusat pro Gramm Nierengewicht während 72 Stunden nichtpulsierender Perfusion

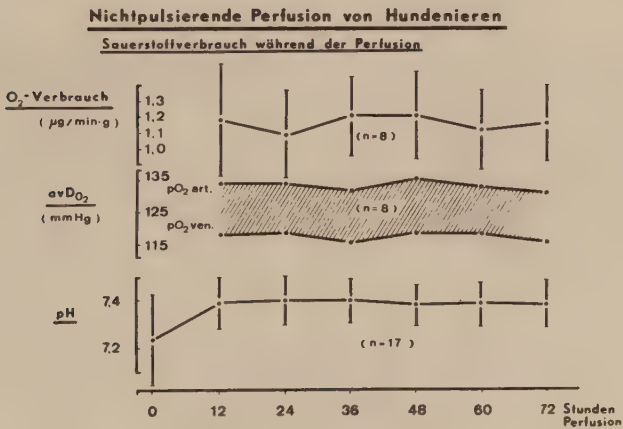


Abb. 4 Arterio - venöse Sauerstoffdifferenz und pH während der Perfusion

Nichtpulsierende Perfusion von Hundenieren

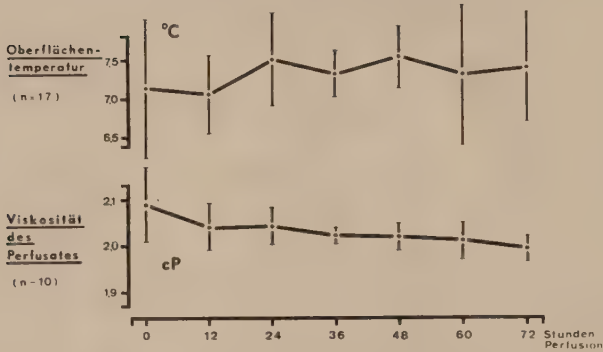


Abb. 5 Änderung der Oberflächentemperatur der Niere und der Viskosität des Perfusates

Nichtpulsierende Perfusion von Hundenieren

Funktionsdaten nach Transplantation

(n = 12)

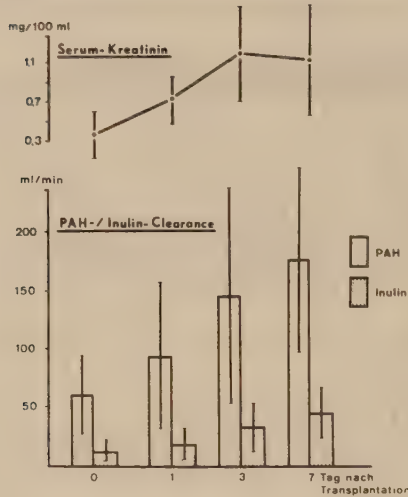


Abb. 6 Funktionsdaten (Serum-Kreatinin und PAH-Inulin-Clearance) nichtpulsierend perfundierter Nieren im Verlauf über eine Woche

Nichtpulsierende Perfusion von Hundenieren

Urinkonzentrationen nach Transplantation

(n = 12)

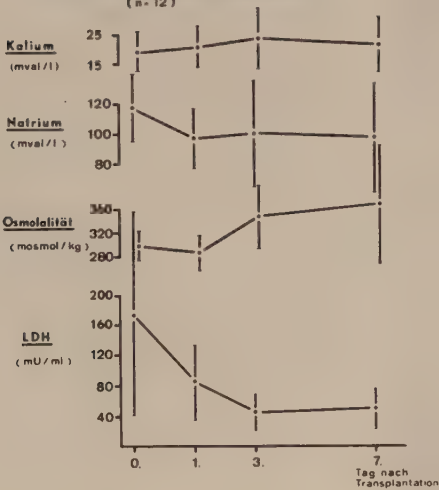


Abb. 7

Kontrolle der Nierenfunktion über eine Woche nach Transplantation: Harnkonzentration von K^+ , Na^+ ; Osmolalität und LDH

Nichtpulsierende Perfusion von Hundenieren

Urinkonzentrationen nach Transplantation

(n = 12)

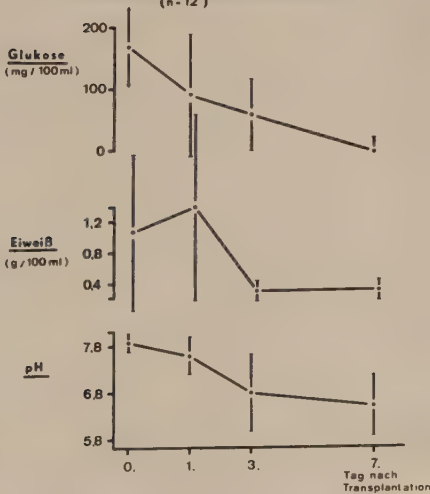
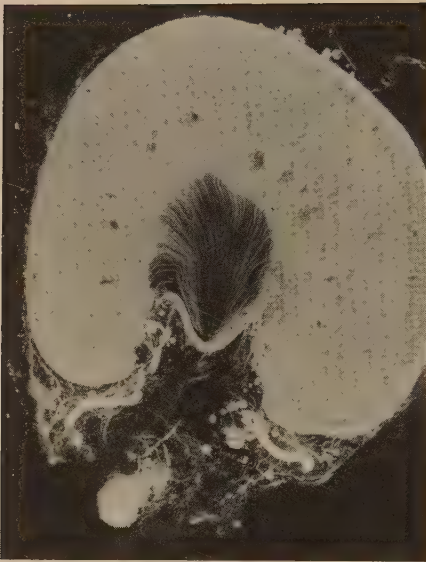


Abb. 8

Kontrolle der Nierenfunktion über eine Woche nach Transplantation: Harnkonzentration von Glukose und Eiweiß; pH-Verlauf;



Übersichtsaufnahmen
Vergrößerung ca. 2,5fach;
identische Füllungs-
dichte bei pulsierender
und nichtpulsierender
Perfusionstechnik

Abb. 9
nach 12 Stunden pul-
srierender Perfusion
Füllung mit Microfil^R

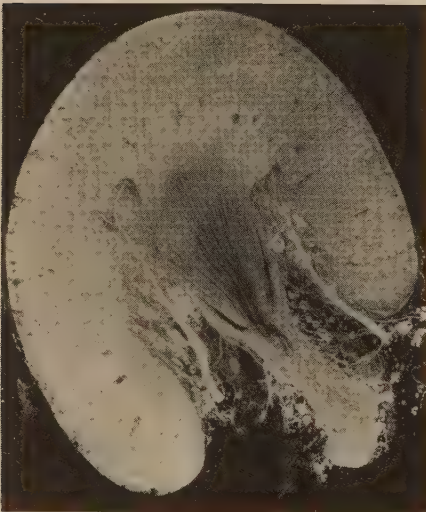
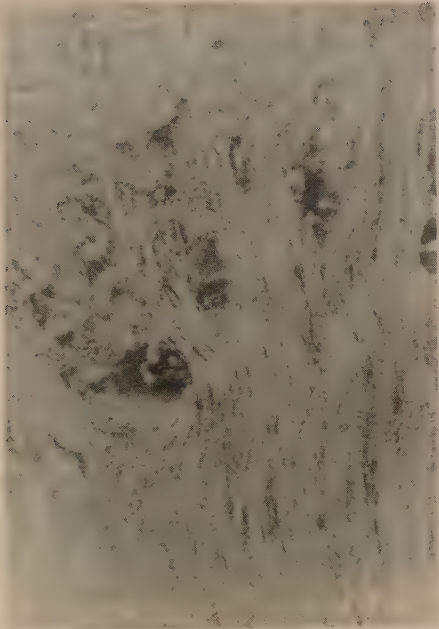


Abb. 10
nach 12 Stunden nicht-
pulsierender Perfusion
Füllung mit Microfil^R



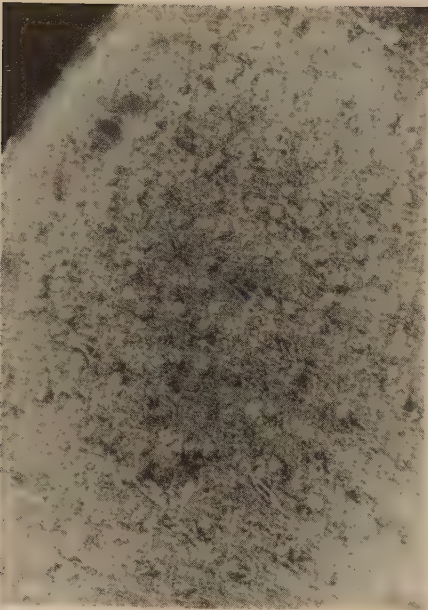
Rinden-Mark-Grenze
Vergrößerung ca. 25 fach

Die Kapillaren zwischen
den Bündeln der vasa
recta sind gut gefüllt
im Bereich des äußeren
Markes, vergleiche
jedoch mit Abb. 18

Abb. 11
Füllung nach 12 Stunden
pulsierender Perfusion



Abb. 12
Füllung nach 12 Stunden
nichtpulsierender
Perfusion



Nierenrinde
Vergrößerung ca.25 fach

Abb. 13
Füllung nach 12 Stunden
pulsierender Perfusion



Abb. 14
Füllung nach 12 Stunden
nichtpulsierender
Perfusion



Füllung der Niere nach
72 Stunden pulsierender
Perfusion

Im Vergleich zu den Auf-
nahmen von Nieren nach
nur zwölfstündiger Kon-
servierung in der äußeren
Nierenrinde beginnende
Rarifizierung der
Glomerula

Abb. 15
Nierenrinde

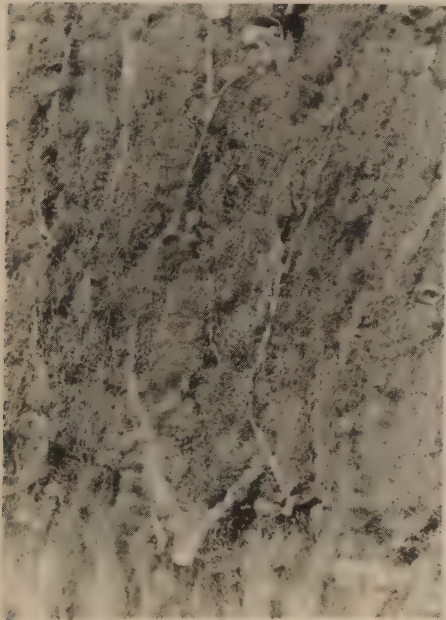


Abb. 16
Rinden-Mark-Grenze



Gefäßdarstellung nach
72 Stunden nichtpul-
sierender Perfusion

Im äußeren Mark sind
die Kapillaren zwischen
den Bündeln der vasa
recta nicht mehr ge-
füllt; vergl. Abb. 11-12

Abb. 17
Nierenrinde

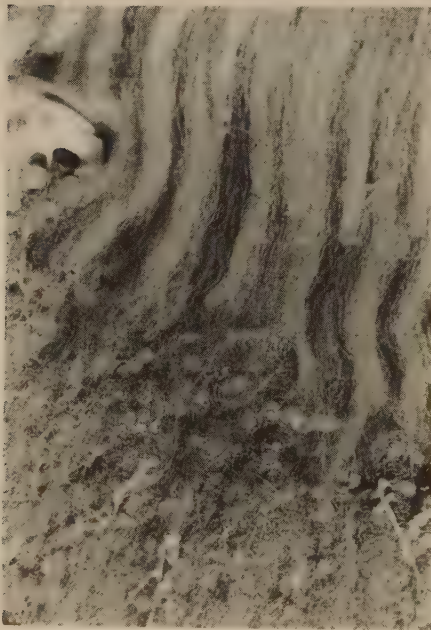
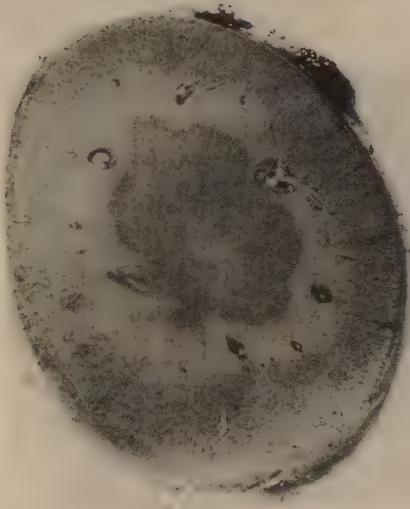


Abb. 18
Rinden-Mark-Grenze



nach 72 Stunden nicht-
pulsierender Perfusion
Bestimmung der Sofort-
funktion PAH/Inulin-
Clearance) und anschlie-
ßend Füllung mit Micro-
fil.

Das gut erhaltene
Kapillarsystem korre-
liert mit der guten
Funktion nach Trans-
plantation.

Abb. 19
Übersichtsaufnahme

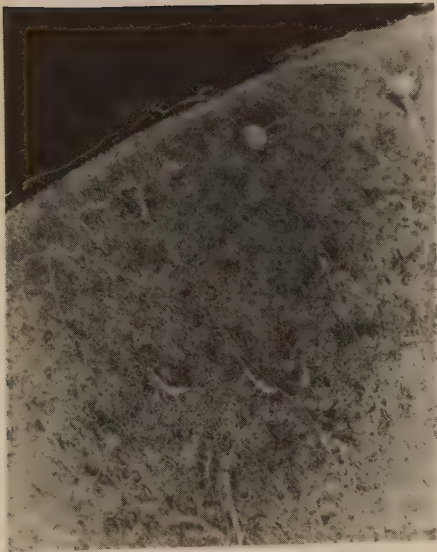


Abb. 20
Nierenrinde

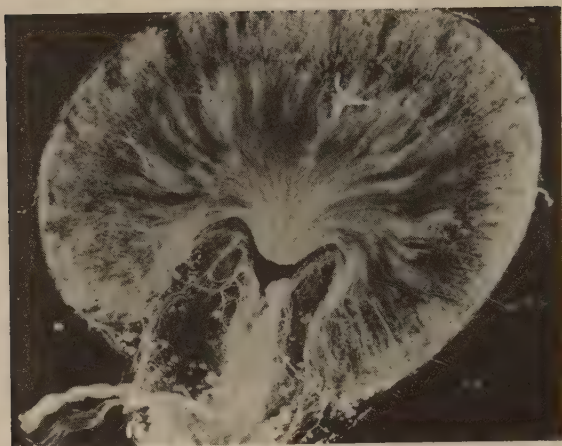


Abb. 21
nach 72 Stunden pulsierender Perfusion unter ungünstigen Bedingungen, Bestimmung der Sofortfunktion (PAH/Inulin-Clearance) und anschließend Füllung mit Microfil.
Ausfall ganzer Parenchymbezirke insbesondere im Bereich der Nierenrinde; relativ übermäßige Füllung der Papillenspitze;

Nach 72 Stunden pulsierender Perfusion unter ungünstigen Bedingungen. Bestimmung der Sofortfunktion (PAH/Inulin-Clearance) und anschließend Darstellung des Kapillarsystems mit Microfil

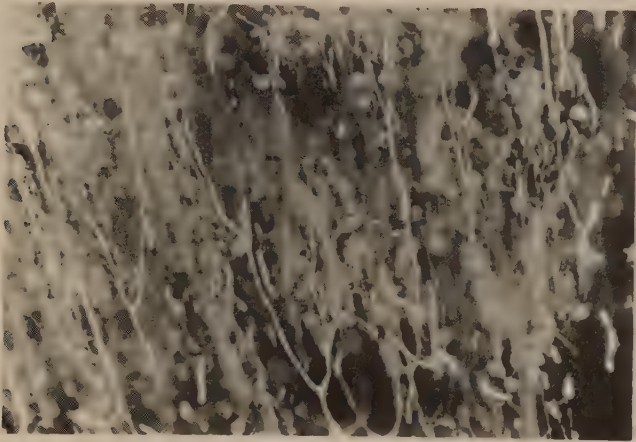


Abb. 22 Nierenrinde

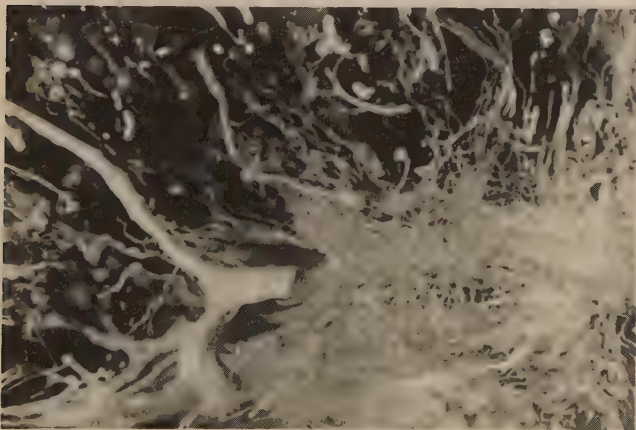


Abb. 23 Rinden-Mark-Grenze

VII. Literaturverzeichnis

1. Brunner, Giesecke, Gurland, Jacobs,
Combined report on regular dialysis and transplan-
tation in Europe, V-1974
2. Belzer, F.O., Ashby, B.S. Dunphy, J.E.
24-hour and 72-hour preservation of canine kidneys.
Lancet II-536-1967
3. Abouna, G.M., Lim, F., Cook, J.S., Grubb, W., Craig, S.S.,
Seibel, H.R., Hume, D.M.
Three-Day canine kidney preservation.
Surgery 71, 436, 1972
4. Benjamin, J.L., Sell, K.W.
Assesment of renal function during isolated in
vitro perfusion.
Transplantation Proceedings, Vol.III, No.1, 1971
5. Grundmann, R., Landes, T., Pichlmaier, H.
Hypothermic pulsatile perfusion of dog kidneys
Transplantation, Vol.14, No.6, 742, 1972
6. Grundmann, R. Landes, T. Pichlmaier, H.
48-72 Stunden Konservierung von Hundenieren durch
hypotherme, nichtpulsierende Perfusion.
Klin.Wschr. 50, 1141, 1972
7. Rosen, S.M. Truniger, B.P. Kriek, H.R. Murray, J.E.
Merrill, J.P.
Intrarenal distribution of blood flow in the
transplanted dog kidney.
J.clin.Invest. 46, 1239, 1967
8. Truniger, B.P. Grandchamp, A.
Nierendurchblutung und renale Blutverteilung
Bull.schweiz.Akad.med.Wiss. 27, 378, 1971
9. Carriere, S. Daigneault, B. Rochefort, F.
Effect of retransfusion after hemorrhagic hyop-
tension on intrarenal distribution of blood flow
in dogs.
J.clin.Invest. 49, 2205, 1970

10. Mc.Nay, J.L. Abe, Y.
Pressure-dependent heterogeneity of renal
cortical blood flow in dogs.
Circulation Res. XXVII, 571, 1970
11. Grundmann, R. Pichlmaier, H.
Nierenkonservierung durch maschinelle Dauer-
perfusion.
Chirurg, 44, 413, 1973
12. Lokkegaard, H. Gyrd-Hansen, N. Hansen, R.I.
Hasselager, E. Nerstorm, B. Rasmussen, F.
Further experiences with kidney preservation for
24 hours using continuous hypothermic perfusion.
Acta med.scand. 191, 191, 1972
13. Slotkoff, L.M. Logan, A. Jose, P. D'Avella, J.
Eisner, G.M.
Microsphere measurement of intrarenal circulation
of the dog
Circulation Res. XXVIII, 158, 1971
14. Reubi, F.C. Gossweiler, N. Görtler, R.
Renal circulation in man studied by means of a
dye-dilution method.
Circulation, 33, 426, 1966
15. Carriere, S.
A comparison of the disappearance curves of ^{133}Xe
and ^{85}Kr for the measurement of the intrarenal
distribution of blood flow.
Canad.J.Phys.Pharm. 48, 834, 1970
16. Katz, M.A. Blantz, R.C. Rector, F.C. Seldin, D.W.
Measurement of intrarenal blood flow. I. Analysis
of microsphere method.
Amer.J.Physiol. 220, 1903, 1971
17. Grangsjö, G.
Variations in the cortical and medullary blood
flow through the dog kidney with heated Thermocouples.
Uppsala, Akademisk Maskinskrift 1968

18. Wallin, J.D. Rector, F.C. Seldin, D.W.
Measurement of intrarenal plasma flow with anti-glomerular basement-membrane antibody
Amer. J. Physiol. 221, 1621, 1971
19. Grundmann, R. Pichlmaier, H.
Perfusionsverhalten und Funktion pulsierend und nichtpulsierend perfundierter Hundenieren.
Res. exp. Med. 163, 63, 1974
20. Collins, G.M. Bravo-Shugarman, M. Terasaki, P.I.
Kidney preservation for transplantation
Lancet 1969, II, 1219
21. Manax, W.G. Bloch, J.H. Longerbeam, J.K. Lillehei, R.C.
Successful 24 hour in vitro preservation of canine kidneys by the combined use of hyperbaric oxygenation and hypothermia.
Surgery, 56, 275, 1964
22. Sacks, S.A. Petritsch, P.H. Kaufmann, J.J.
Canine kidney preservation using an ex perfusate.
Lancet, 1973, I, 1024
23. Grundmann, R. Berr, F. Pitschi, H. Kirchhoff, R. Pichlmaier, H.
Ninetysix-hour preservation of canine kidneys.
Transplantation 17, 299, 1974
24. Belzer, F.O. Reed, T.W. Pryor, J.P. Kountz, S.L. Dunphy, J.E.
Cause of renal injury in kidneys obtained from cadaver donors.
Surg. Gyn. Obstet. 130, 467, 1970
25. Wroblewski, F. La Due, J.S.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 90, 210, 1955
26. Karmen, A. Wroblewski, F. La Due, J.S.
Transaminase activity in human blood.
J. clin. Invest. 34, 126, 1955
27. Weichselbaum, T.E.
J. clin. Path. 16, 40, 1946

28. Amon, J.
Schw.med.Wschr. 100,1317,1970
29. Leaf, A.
On the mechanism of fluid exchange of tissues
in vitro.
Biochem.J. 62,241,1956
30. Deutsch, E. Geyer, G.
Laboratoriumsdiagnostik
August Steinkopfverlag Berlin 1969
31. Sarre, H.
Nierenkrankheiten
Thieme-Verlag Stuttgart 1967
32. Grundmann, R. Pichlmaier, H.
Perfusionsverhalten und Funktion pulsierend und
nichtpulsierend perfundierter Hundenieren.
Res.exp.Med. 163,63,1974
33. Grundmann, R. Raab, M. Meusel, E. Kirchhoff, R.
Pichlmaier, H.
Analysis of the optimal perfusion pressure and
flow rate of the renal vascular resistance and
oxygen consumption in the hypothermic perfused
kidney.
Surgery 77,3,451,1975
34. Grundmann, R. Pitschi, H. Berr, F. Pichlmaier, H.
Nonpulsatile vs. pulsatile canine kidney perfusion.
Surgery 75,2,178,1974
35. Woods, J.E.
Successful three-to-seven-day preservation of
canine kidneys.
Arch.Surg. 102,614,1971
36. Wu, M.S. Linke, C.A. Panner, B. Roberts, A.
Cockett, A.T.K.
Early evaluation of renal function after prolonged
hypothermic preservation.
Invest.Urol. 11,154,1973

37. Grundmann, R. Liebau, G. Pichlmaier, H.
Die Funktion von Hundenieren nach hyperbarer
Xenon-Konservierung.
Klin. Wschr. 50, 337, 1972
38. Coopermann, A.M. Mc Ilrath, D.C. Holley, K.E.
Maher, F.T. Mathews, L.E.
Successful 24 hour preservation of canine kidneys.
Surgery 70, 399, 1971
39. Thureau, K. Wober, E.
Zur Lokalisation der autoregulativen Widerstands-
änderung in der Niere.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 274, 553, 1962
40. Thureau, K. Henne, G.
Die transmurale Druckdifferenz der Widerstands-
gefäße als Parameter der Widerstandsregulation
in der Niere.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 279, 156, 1964
41. Shipley, R.E. Study, R.S.
Changes in renal blood flow, extraction of Inulin,
glomerular filtration rate, tissue pressure and
urine flow with acute alterations of renal artery
blood pressure.
Am. J. Physiol. 167, 676, 1951
42. Summers, W.K. Jamison, R.L.
The no reflow phenomenon in renal ischemia.
Laboratory Investigation 25, 6, 635, 1971
43. Chmiel, H.
Zur Blutrheologie in Medizin und Technik.
Habilitationsschrift Technische Hochschule
Aachen, 1973, Seite 68-69
44. Dintenfass, L.
Blood microrheology
Butterworths, London, 1971, Seite 41

45. Grundmann, R. Landes, T. Pichlmaier, H.
Hypothermic pulsatile perfusion of dog kidneys:
Factors limiting successful preservation time.
Transplantation, 14, 742, 1972
46. Hardie, I.R. Clunie, G.J.A. Balderson, G.
Leditschke, J.F. Leslie, I.J.
A simplified kidney preservation system: further
development and results of extended perfusion.
Surgery 75, 651, 1974
47. Liebau, G. Klose, H.J. Fischbach, H. Pichlmaier, H.
Simple tests for viability of the hypothermic
perfused dog kidney.
Surgery 70, 459, 1971
48. Deetjen, P. Kramer, K.
 Na^+ -Rückresorption und O_2 -Verbrauch der Niere.
Klin. Wschr. 38, 680, 1960
49. Thureau, K.
Hämodynamik des Nierenkreislaufs
in Schwieck, Handbuch der Inneren Medizin
5. Auflage, 8. Band, 1. Teil
50. Lassen, N.A. Munck, O. Thaysen, J.H.
Oxygen consumption and Sodium reabsorption
in the kidney.
Acta physiol. scand. 51, 371, 1961
51. Deetjen, P. Kramer, K.
Die Abhängigkeit des Sauerstoffverbrauchs der
Niere von der Na^+ -Rückresorption.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 273, 636, 1961
52. Deetjen, P. Boylan, J.W. Kramer, K.
Niere und Wasserhaushalt.
Urban und Schwarzenberg, München 1973
53. Levy, M.N.
Oxygen consumption and blood flow in the hypo-
thermic perfused kidney.
Amer. J. Physiol. 197, 1111, 1959

54. Lokkegaard, H.
Kidney preservation with hypothermia and hyperbaric oxygen.
Acta med. scand. 187, 189, 1970
55. Santiago-Delpin, E.A. Moberg, A.W. Mozes, M.F.
Campos, R.A. Mason, R.V. Najarian, J.S.
Comparative analysis of perfusion and nonperfusion methods for renal preservation.
Surgery 72, 793, 1972
56. Woods, J.E. Cooperman, A.M. Mathews, L.E.
An effective system for long-term organ preservation
Mayo Clin. Proc. 46, 754, 1971
57. Couch, N.P. Maginn, R.R. Middleton, M.K. Appleton, D.R.
Dmochowski, J.R.
Effects of ischemic interval and temperature on renal surface hydrogen ion concentration.
Surg. Gyn. Obstet. 125, 521, 1967
58. Alexander, J.L. Dmochowski, J.R. Murray, J.E.
Couch, N.P. Macey, A.M. Prentiss, N.A.
Successful 24 hour renal perfusion - preservation with monitoring by surface electrometry during the storage interval.
Surgery 67, 944, 1970
59. Myers, M.B. Cherry, G. Gesser, J.
Relationships between surface pH and pCO_2 and the vascularity and viability of intestine.
Surg. Gyn. Obstet. 134, 787, 1972
60. Johnson, R.W.G. Anderson, M. Taylor, R.M.R. Swinney, J.
The assessment of renal injury prior to transplantation.
in: Pegg, D.E. : Organ preservation
Churchill Livingstone, Edinburgh and London, 1973, p. 191
61. Sobin, S.S. Frasher, W.G. Tremer, H.M. Hadley, G.G.
The microcirculation of the tracheal mucosa.
Angiology 14, 165, 1963

62. Dougherty, J.C. Veith, F.J.
Krypton 85 washout curves in isolated perfused kidneys.
Arch.Surg. 105, 464, 1972
63. Miller, H.C. Alexander, J.W. Nathan, P.
Effect of warm ischemic damage on intrarenal distribution of flow in preserved kidneys.
Surgery 72, 193, 1972
64. Small, A. Bell, R.T. Filo, R.S. Woodward, C.R.
Measurement of intracortical flow distribution in hypothermic isolated perfused kidneys.
Amer.J.Physiol. 225, 1199, 1973

Zu größtem Dank bin ich Herrn Dr.R.Grundmann für
die ständige Anleitung und Betreuung bei der Aus-
führung der Versuche und der Fertigstellung der
Arbeit verpflichtet.

Lebenslauf

Am 16.3.50 wurde ich als Sohn von Hans und Josefa Raab in München geboren.

von 1956 - 60 Besuch der Grundschule in München am Canisiusplatz;

1960 Übertritt in das altsprachliche Ludwigsgymnasium in München;

1969 Abitur;

1970 Beginn des Medizinstudiums an der Ludwigs-Maximilians-Universität in München;

Studium im Herbst 1975 mit dem Staatsexamen beendet.

München, Mai 1976

Max Raab

